

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

Lebens- und Schlafqualität bei Patienten mit einer Nicht-Alkoholischen-Fettleber
(NAFLD) in Abhängigkeit der Leberfunktion – Eine LiMax-NAFLD/NASH-Studie

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

Vorgelegt von

Judith Laufenberg
aus Viersen- Dülken

Mainz, 2021

Tag der Promotion:

14.03.2023

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis.....	IV
Tabellenverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
2 Literaturdiskussion	3
2.1 Definition der NAFLD und NASH	3
2.2 Pathogenese	4
2.2.1 Insulinresistenz.....	5
2.2.2 Ernährung und Fruktose	7
2.2.3 Genetische Faktoren	7
2.2.4 Metabolische Inflammation	8
2.3 Epidemiologie.....	9
2.3.1 Prävalenz und Inzidenz der NAFLD.....	9
2.3.2 Mortalität.....	10
2.3.3 Assoziierte Risikofaktoren und Folgen der NAFLD.....	11
2.4 Sozioökonomische Folgen der NAFLD	14
2.5 Diagnostik der NAFLD und NASH.....	15
2.5.1 Einführung	15
2.5.2 Diagnostisches Vorgehen.....	16
2.5.3 Die Leberbiopsie.....	17
2.5.4 Diagnose der Fibrose anhand von Labor-Scores	18
2.5.5 Diagnose der Fibrose mittels Bildgebungsbasierender Methoden.....	21
2.5.6 Point shear wave elastographie (SWE) und Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)	23
2.5.7 Magnetresonanztomographie (MRT) und Computertomographie (CT) ..	24
2.5.8 Der „Liver maximum capacity “(LiMax)-Test	25
2.6 Lebensqualität bei Patienten mit einer NAFLD/ NASH.....	28

Abkürzungsverzeichnis

2.7	Schlafqualität bei Patienten mit einer NAFLD / NASH.....	32
2.8	Fragestellung	34
3	Methodik.....	35
3.1	Patientenkollektiv und Studiendesign.....	35
3.1.1	Ethikkommission.....	35
3.1.2	Einschlusskriterien.....	35
3.1.3	Ausschlusskriterien.....	35
3.1.4	Zeitlicher Ablauf.....	35
3.2	Leberfunktionstestung mittels ¹³ C-Methacetin-Atemtest	36
3.2.1	Durchführung des LiMax-Tests in der Studie.....	36
3.3	Chronic Liver Disease Questionnaire-NAFLD (CLDQ-NAFLD).....	37
3.4	Pittsburgh Schlafqualitätsindex (PSQI)	38
3.5	Statistische Auswertung	39
4	Ergebnisse	40
4.1	Patienten-Charakteristika	40
4.1.1	Komorbiditäten.....	40
4.1.2	LiMax Werte.....	42
4.1.3	CLDQ und Subdomänen	43
4.1.4	PSQI	47
4.1.5	Krankheitsstadium der NAFLD	48
4.1.6	Lebens- und Schlafqualität im Zusammenhang mit dem Fibrosegrad ...	49
5	Diskussion.....	51
5.1	Ergebnis-Diskussion.....	51
5.2	Stärken und Limitationen der Studie	58
6	Zusammenfassung.....	62
7	Literaturverzeichnis	64
	Danksagung	78
	Tabellarischer Lebenslauf	Fehler! Textmarke nicht definiert.

Abkürzungsverzeichnis

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
ALD	alkoholischen Lebererkrankung
ALT	Alanin-Aminotransferase
APRI	Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio-Index
ARFI	Acoustic Radiation Force
AST	Aspartat-Aminotransferase
AUROC	Area Under the Receiver Operating Characteristics
BMI	Body-Maß-Index
CLDQ	Chronic Liver Disease Questionnaire
CVD	chronisch vaskuläre Erkrankungen
Cyp1A2	Cytochrom P450 1A2
DM2	Diabetes-Mellitus Typ 2
DNL	Hepatische de novo Lipogenese
EASL-EASD-EASO	European associations for the study of the liver, diabetes and obesity
ECM	extrazelluläre Matrix
ELF- Test	enhanced liver fibrosis-Test
Fib-4-Index/Score	Fibrosis-4-Index
FS	Fettsäuren
GAIN	Global Assessment of the Impact of NASH
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HDL	high density lipoprotein
HR	Hazard ratio
HRQL	Health-related quality of life
IL-6	Interleukin-6
IR	Insulinresistenz
IRS	Insulin-Rezeptor-Substrate
KHK	koronaren Herzerkrankung
KI	Konfidenzintervall

LDL	Low density lipoprotein
LiMax- Test	Maximum liver function capacity “- Test
MAFLD	metabolic (dysfunction) associated fatty liver disease
MI	Myokardinfarkt
NaCl	Natriumchlorid
NALFD	Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung
NAS	NAFLD-Activity-Score
NASH	Nicht-alkoholische-Steatohepatitis
NDIRS	nicht-dispersiven isotopenselektiven Infrarotspektroskopie
NFS	NAFLD-Fibrosis-Score
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
OR	odds ratio
PNPLA3	Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
PRO	patient reported outcome
PRO-C3	N-Terminal type III collagen propeptide
PSQI	Pittsburgh Sleep Quality Index
ROS	Reaktive Sauerstoff-Spezies
SAF-Score	Steatosis-Activity-Fibrosis-Score
SD	Standardabweichung
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SREBP- 1c	Sterin-Rezeptorbindendes Protein 1c
SWE/pSWE oder 2D-SWE	Scherwellenelastographie
TG	Triglyceride
TIMP1	tissue inhibitor of metalloproteinase-1
TJ	Tight-junctions
TLR	Toll-like Rezeptor
TNF-Alpha	Tumor- Nekrose-Faktor- alpha
VCTE	vibrationskontrollierte transiente Elastographie
VHF	Vorhofflimmern

yGT

Gamma-Glutamyltransferase

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf eine NAFLD	16
Abbildung 2: Funktionsweise des LiMax- Tests.....	25
Abbildung 3: Echtzeit-Leberfunktionstest mit Hilfe des LiMax-Wertes	26
Abbildung 4: Einflussfaktoren der HRQL bei NAFLD-Patienten	30
Abbildung 5: Histogramm zum Test auf Normalverteilung der gemessenen LiMax- Werte.....	43
Abbildung 6: Streudiagramm zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen LiMax- Werten und CLDQ	45
Abbildung 7: Streudiagramm zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen LiMax- Werten und der Aktivität	46
Abbildung 8: Vergleich des CLDQ zweier Patientengruppen, aufgeteilt anhand des Medians der LiMax- Testergebnisse.....	46
Abbildung 9: Vergleich der Aktivität zweier Patientengruppen, aufgeteilt anhand des Medians der LiMax- Testergebnisse.....	47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika der Studienpopulation im Gesamtkollektiv	42
Tabelle 2: Test auf Normalverteilung der LiMax-Messwerte.....	42
Tabelle 3: Mittelwerte und SD der Subdomänen des CLDQ.....	43
Tabelle 4: Korrelationsanalyse von LiMax-Werten und dem CLDQ.....	44
Tabelle 5: Vergleich der Subdomänen des CLDQ zweier Patientengruppen, aufgeteilt anhand des Medians der LiMax-Testergebnisse.	44
Tabelle 6: Cronbachs Alpha des CLDQ.....	47
Tabelle 7: Korrelationsanalyse von LiMax-Werten und PSQI	48
Tabelle 8: Cronbachs Alpha für den PSQI.....	48
Tabelle 9: Korrelation der Leberfunktion, bemessen an dem LiMax-Wert im Zusammenhang mit dem histologischen Krankheitsstadium der NAFLD	48
Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung der einzelnen histologisch gesichteten Fibrosegrade	49
Tabelle 11: Korrelationsanalyse der einzelnen Fibrosegrade zum LiMax-Wert.....	49
Tabelle 12: Korrelation des histologischen Fibrosegrades der Leber im Zusammenhang mit dem CLDQ und des PSQI.....	50

1 Einleitung

Die Nicht-alkoholische Fettleber (NAFLD) ist eine der häufigsten Ursachen chronischer Lebererkrankungen mit einer globalen Prävalenz von 25,2% (1). Die NAFLD bzw. die Nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH) korreliert in seiner Pathogenese mit allen Faktoren des metabolischen Syndroms und ist als hepatische Manifestation dessen zu betrachten (2). Das metabolische Syndrom beschreibt die Koexistenz von Adipositas, Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ II, Hypertonus und Hyperlipidämie (3). Vor allem die Adipositas und ein Diabetes mellitus Typ II (DM2), mit einer einhergehenden Insulinresistenz, sind als führende Faktoren in der Pathogenese der NAFLD nennenswert (4). Durch die steigende Prävalenz dieser Erkrankungen, verzeichnet die NAFLD einen vorhergesagten Zuwachs von 0-30% zwischen den Jahren 2016 und 2030 (5).

Die NASH ist die entzündliche, progrediente Form der NAFLD und geht mit einem potenziell schwereren Krankheitsverlauf einher. Die Folgen sind Leberfibrose, Leberzirrhose und die Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC)(6).

Da spezifische Symptome von Lebererkrankungen erst in einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium sichtbar werden, wird die Diagnose einer NAFLD sowie der NASH oft erst verspätet gestellt (7). Allerdings kann eine frühzeitige Diagnosestellung durch präventive und therapeutische Maßnahmen ein weiteres Fortschreiten der NAFLD sowie NASH verhindern (8). Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung erfahren unspezifische Symptome wie Müdigkeit, Adynamie und abdominelles Unwohlsein. Diese Symptome erhöhen die Krankheitslast, verringern die Lebensqualität und haben Einfluss auf das „*patient reported outcome*“ (PRO) (9). Um Patienten mit sowohl erhöhter Krankheitsaktivität als auch erhöhter ermittelter Symptomlast zu identifizieren und damit Patienten mit dem größten Bedarf für eine Therapie zu finden, könnte eine Kombination aus beispielsweise dem „maximum liver function capacity“- Test (LiMax-Test), dem organ-spezifischen „Chronic Liver Disease Questionnaire“ (CLDQ) und des „Pittsburgh Sleep Quality Index“ (PSQI) wegweisend sein.

Goldstandard für die Diagnose einer NAFLD oder NASH, sowie die Unterscheidung dieser ist nach aktuellem Stand nach wie vor die Leberbiopsie (10). Die Leberbiopsie ermöglicht neben der alleinigen Diagnosestellung einer NAFLD oder NASH die Ermittlung des Fibrosegrades der Leber. Dieser ist eng mit Mortalität, Morbidität und

dem „patient important outcome“ verknüpft (11, 12). Dulai et al. konnten zeigen, dass die Leber-assoziierte Mortalität bei Patienten mit einer NAFLD oder NASH mit steigendem Fibrose Stadium exponentiell zunimmt (11). Die Leberbiopsie ist ein invasiver, zum Teil schmerzhafter sowie kostenintensiver Eingriff, welcher selten auch zu schwerwiegenden unerwünschten Nebenwirkungen, wie beispielsweise Nachblutungen, Verletzungen anderer Organe und selten sogar zum Tode führen kann (13).

Andere bereits etablierte Tests zur Evaluation des Fibrosegrades der Leber, wie beispielsweise der NAFLD-Fibrosis-Score (NFS), Fibrosis-4-Index (Fib-4-Index) (14) oder weitere nicht-invasive krankheitsaktivitäts-bestimmende Tests, wie der LiMax-Test, sind nicht mit diesen Risiken verbunden.

Wie bereits genannt, ist nach aktuellem Stand der Wissenschaft der Grad der Fibrose einer NAFLD/NASH von der größten prognostischen Relevanz für den Patienten. Dieser konnte ebenfalls als Faktor einer Lebensqualitätseinschränkung in Patienten einer NAFLD Erkrankung festgestellt werden (12, 15). Der LiMax-Test misst, anders als die anderen nicht-invasiven krankheitsaktivitäts-bestimmenden Tests, die Leberfunktion. Eine Untersuchung, inwiefern die Leberfunktion Aussagen über die vom Patienten erfahrende Lebensqualität geben kann, ist bis zum heutigen Zeitpunkt unerforscht.

In der vorliegenden Arbeit wird auf der Grundlage einer LiMax-NASH-Studie der Einfluss der Leberfunktion, in Verbindung mit dem Krankheitsstadium der NAFLD, auf die Lebens- und Schlafqualität bei betroffenen Patienten untersucht.

2 Literaturdiskussion

Im Folgenden Kapitel wird zunächst die NALFD und NASH in ihrem Krankheitsbild definiert bevor auf die Epidemiologie dieser Erkrankungen eingegangen wird sowie die sozio-ökonomischen Folgen, die im Zusammenhang mit der NALFD und der NASH stehen, beschrieben werden. Anschließend wird auf die Pathogenese und mit dieser im Zusammenhang stehenden Schlaf- und Lebensqualität eingegangen, bevor die Diagnosestellung erläutert wird.

2.1 Definition der NAFLD und NASH

Für die Diagnose der NAFLD bedarf es zum einen des Nachweises einer hepatischen Steatose, entweder histologisch gestützt oder mit Hilfe eines anderen bildgebenden Verfahrens, sowie des Ausschlusses einer anderen Steatose-induzierenden Grunderkrankung (16).

Histologisch ist die NAFLD als eine Leberparenchymverfettung von >5%, ohne Nachweis von hepatozellulären Schäden, wie beispielsweise die hepatozelluläre Ballonierung definiert. Für die Diagnose einer NASH muss eine Leberparenchymverfettung von mindestens 5% sowie histologische Zeichen einer Inflammation mit Zeichen einer hepatozellulären Schädigung zu finden sein. Hepatozelluläre Schädigung ist anhand des Vorhandenseins von ballonierten Hepatozyten, Mallory- Körpern und gemischt lymphozytärer sowie neutrophiler Infiltrate in den perivenösen Bereichen entweder mit oder ohne das Vorkommen von fibrotischen Umbauten erkenntlich (17-19).

Differentialdiagnosen für andere Ätiologien einer Leberverfettung sind beispielsweise die Einnahme von steatose-induzierender Medikamente (z.B. Amiodaron, Tamoxifen), virale Hepatitiden, vor allem Hepatitis C (Genotyp 3), autoimmune Lebererkrankungen (Morbus Wilson, autoimmune Hepatitis) oder ein signifikanter Alkoholkonsum (20-22). Ein akzeptabler Alkoholkonsum ist als ein täglicher Konsum von weniger als 20g / Tag für Männer und 10g /Tag für Frauen bis hin zu einem täglichen Alkoholkonsum von 30g / Tag definiert (6, 23).

Zur Abkehr von einer Diagnostik, die auf dem Ausschluss bestimmter Kriterien fußt, wird zunehmend die Etablierung von positiven Diagnosekriterien empfohlen. Die NAFLD und NASH sind stark mit Übergewicht, DM2 und einer metabolischen Dysregulation, wie einer Insulinresistenz assoziiert, sodass diese Kriterien im

Zusammenhang mit dem Vorhandensein einer hepatischen Steatose der Diagnosestellung dienen könnten (17, 20, 22). Aufgrund dieses Zusammenhangs von NAFLD und den oben genannten metabolischen Risikofaktoren schlagen verschiedene Experten einen Wechsel der Nomenklatur für diese stoffwechselassoziierte Fettleberkrankung vor (22). Auf Grundlage der Patientenheterogenität, dem aktuellen Wissensstand bezüglich der Fettlebererkrankung sowie der Subphänotypisierung der Erkrankung mit Alkoholkonsum erscheint ein angemessener übergreifender Begriff die „metabolic (Dysfunktion) associated fatty liver disease“ (MAFLD) zu sein (24). Die Definition der MAFLD ist somit nicht auf Abwesenheit von Kriterien, sondern auf dem Vorhandensein von metabolischen Dysfunktionen begründet. Infolgedessen, erweitert sich das Patientensprektrum der Fettlebererkrankung um Personengruppen, welche die MAFLD-Kriterien erfüllen, allerdings durch die NAFLD Kriterien ausgeschlossen wären. Dies involviert Patienten, welche aufgrund einer anderen Ätiologien eine Leberverfettung erlitten haben. Dies inkludiert die Lebersteatose durch, den Konsum von Alkohol, die Infektion mit Virushepatitiden, sowie sekundäre Ursachen wie hereditäre Dysfunktionen oder den Konsum von Steatose-induzierenden Medikamenten (25). Über die Akzeptanz beziehungsweise auch Relevanz der zum einen Erweiterung des Patientenspektrums aber auch des Ausschlusses von Patienten, welche NAFLD Kriterien, allerdings nicht die MAFLD Kriterien erfüllen, wird derzeit noch diskutiert. Beispielhafte Patientengruppen, welche durch die MAFLD Kriterien ausgeschlossen sind, wären schlanke oder normalgewichtige NAFLD-Patienten, ohne metabolische Dysregulation (25-28).

2.2 Pathogenese

Die NAFLD wird als multifaktorielle Erkrankung angesehen, welche sich bei genetischer Prädisposition und Exposition mit bestimmten Umweltfaktoren manifestiert. Aktuell wird von einer „Multiple- Hit- Theorie“ ausgegangen (29). Übergewicht, Insulinresistenz, falsche Ernährung, die Zusammensetzung des Darmmikrobioms, Hormone des Fettgewebes sowie genetische und epigenetische Faktoren werden als solche „Hit´s“ definiert. Diese agieren zum einen synergistisch, zum anderen auch parallel in der Pathogenese der NAFLD. Progressive Fettgewebisdysfunktion und Insulin-resistenz (IR) scheinen in der Entstehung der NAFLD eine besondere Rolle einzunehmen (30-32).

Die NAFLD ist durch eine Triglycerid (TG)-Akkumulation in der Leber gekennzeichnet. Diese ist Folge eines verschobenen Gleichgewichts zwischen dem Zu- und Abfluss von Fettsäuren (FS) in der Leber (33). Schlüsselfaktoren für dieses Ungleichgewicht sind eine gesteigerte hepatische de-Novo-Lipogenese (DNL) und eine gestörte Inhibition der Fettgewebslipolyse mit daraus folgendem gesteigertem Anfluten von FS zur Leber (34). Die Dysfunktion des Fettgewebes wird durch eine IR, beispielsweise bei Übergewicht oder DM2, gefördert und führt darüber hinaus zu einer Sekretion von Adipokinen und inflammatorischen Zytokinen (35).

Der erhöhte Anfall von freien FS, freiem Cholesterin und anderen Fettmetaboliten mündet in einer gesteigerten β -Oxidation und oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien, den Peroxisomen und dem endoplasmatischen Retikulum der Hepatozyten (36). Durch diese Prozesse kommt es zu einem hohen Anfall von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), welche die antioxidativen Kapazitäten der Zellen verbrauchen und in eine Protein- und Fettperoxidation, DNA- Schäden sowie einer Inflammation münden (=Lipotoxizität). Diese Lipotoxizität induziert eine Immunantwort, welche zu einer beschleunigten Progression der NAFLD führt (37). Diese Mechanismen sind Grundlage für die Entstehung der NASH (38). NASH-Patienten zeichnen sich zudem durch ultrastrukturelle Veränderungen der Mitochondrien, eine verminderte mitochondriale Atmung und eine gestörte ATP-Bildung aus (39). Die weitere Krankheitsprogression der NASH mit Fortschritt der Fibrosierung sowie der Kanzerogenese mit Entwicklung eines HCC ist durch folgende Faktoren erklärbar: Der erhöhte Anfall von ROS bewirkt gepaart mit DNA-Schäden eine chronische Verletzung des Leberparenchmys. Dadurch besteht ein konstanter Stimulus für eine Regeneration. Überdies entsteht ein, durch die Hyperinsulinämie bedingter anabolischer Reiz, welcher in Kombination mit vermehrt verfügbaren Energiequellen durch den lipogenen Pfad, weitere Umbauprozesse befeuert. Direkte pro-onkogene Effekte der Lipotoxizität, der geringe Grad an konstanten Entzündungen, sowie die durch die viszerale Fettleibigkeit bedingte veränderte Adipokinhomöostase beschleunigen zusätzlich die Kanzerogenese (40-42).

2.2.1 Insulinresistenz

Eine hepatische Steatose ist epidemiologisch mit der Insulinresistenz assoziiert (43). Im Weiteren werden die durch Insulin begünstigenden Mechanismen, welche die

DNL sowie Lipidakkumulation in der Leber fördern und so die Entstehung der NAFLD herbeiführen aufgeführt.

Insulin fördert physiologisch die Nährstoffspeicherung in die wichtigsten peripheren Zielgewebe durch die Stimulation von (a) der Glukoseaufnahme in Muskel und Fettgewebe, (b) der Glykolyse und Glykogensynthese in Muskel und Leber, (c) der Lipogenese in Fettgewebe und Leber und (d) der Proteinsynthese in Muskel und Leber. Darüber hinaus hat es repressive Funktionen auf die Glykogenolyse, Lipolyse, den Proteinabbau sowie der Glukoneogenese und Ketogenese in der Leber (44-46).

Insulin entfaltet seine Wirkung über die Bindung an seinen spezifischen Rezeptor und einer Aktivierung von intrazellulären Signalkaskaden. Bei Bindung von Insulin an seinen spezifischen Rezeptor kommt es zur Phosphorylierung dessen, sowie verschiedener weiterer Mitglieder der Insulin Rezeptor Substrat (IRS) Familie. Die Hauptmediatoren des Insulinsignals in der Leber sind IRS1 und IRS2. Diese Substrate kontrollieren die Insulinsensitivität in der Leber (47). IRS1 und IRS2 haben indirekt, über verschiedene Kinasen Einfluss auf die Gluconeogenese und die Glycogensynthese. Über weitere Signalwege wird Zellproliferation und Zellüberleben vermittelt (48).

Das Fettgewebe adipöser Patienten ist durch den Zustand einer geringgradigen chronischen Entzündung mit der Akkumulation von Makrophagen und der Freisetzung inflammatorischer Zytokine, einschließlich des Tumornekrosefaktors-alpha (TNF- alpha) und Interleukin-6 (IL-6) charakterisiert (49). Die chronische Entzündung führt zu Aktivierung einer Januskinase, welche durch Phosphorylierung der Rezeptorsubstrate (IRS1 und IRS2) die Insulinwirkung inhibiert und so entscheidend zur Entstehung der Insulinresistenz beiträgt (50). Die IR wird zunächst durch eine Hyperinsulinämie kompensiert. Die Hyperinsulinämie begünstigt durch eine verminderte Oxidation und Sekretion freier FS die Lipidakkumulation, sowie eine erhöhte Fettsäuresynthese und Esterifikation (46).

Die IR ist über die Beeinträchtigung der Insulin- Downstream- Effekte in den Zielgeweben Leber, Muskel und Fettgewebe definiert (51). Es wird angenommen, dass IR im Muskelgewebe beginnt, da dieses bis zu 70% der Glukoseverwertung ausmacht (52). IR im Muskelgewebe führt zu einer vermehrten Glucose-Zufuhr in die Leber, was die DNL mit assoziierter Entzündung und ektopischer Lipidablagerung begünstigt (47). Im Fettgewebe führt die IR zu einer erhöhten Lipolyse in den

Adipozyten, was in einer vermehrten Freisetzung von freien Fettsäuren und deren Anflutung an die Leber mündet (51). Das vermehrte Aufkommen freier FS bewirkt eine Stimulierung lipogener Enzyme, welche wiederum über das Sterinrezeptor-bindende Protein 1c (SREBP-1c) die DNL, selbst in einem insulinresistenten Zustand erhöht (53).

Physiologisch reduziert Insulin bei Nahrungszufuhr die hepatische Gluconeogenese durch Hemmung der Glykogenolyse, wodurch der postprandiale Glukoseanstieg begrenzt wird. Dieser Rückkopplungsmechanismus ist bei Insulinresistenz gestört, was eine weitere hepatische Glukoseproduktion zur Folge hat (=Glukosetoxizität). Die Glukosetoxizität, durch den steigenden Blutglukosespiegel, trägt weiter zur Insulinresistenz bei, wodurch ein Teufelskreislauf entsteht (54).

2.2.2 Ernährung und Fruktose

Der Hauptrisikofaktor für die Entwicklung einer NAFLD, sowie der NASH ist eine exzessive Kalorienaufnahme, primär durch den Verzehr von leicht-verdaulichen, ballaststoffarmen Kohlenhydraten sowie dem erhöhten Konsum von zuckergesüßten Getränken und fettreichen Lebensmitteln (55). Vor allem die erhöhte Zufuhr von Fruktose, in Form von hinzugefügten Zuckern bei industriell verarbeiteten Lebensmitteln korreliert mit dem epidemiologischen Wachstum von Übergewicht, dem metabolischen Syndrom, DM2 und der NAFLD (22, 40, 56).

Ein langjähriger überhöhter Fruktose-Konsum verursacht eine intestinale Dysbiose welche durch eine Reduktion von Tight-junctions im Duodenum in einer erhöhten Darmpermeabilität mündet (57-59).

Änderung des Darmmikrobioms in Form einer bakteriellen Dysbiose bei NAFLD Patienten sind vielfach beschrieben. Der genaue Zusammenhang, der Grad der Relevanz für die Progression, beziehungsweise die bakterielle Dysbiose als Risikofaktor für die Genese der NAFLD ist derzeit jedoch nicht vollends verstanden und befindet sich unter weitreichender klinischer und laboratorischer Forschung (48, 58, 60-70).

2.2.3 Genetische Faktoren

Genetische Faktoren begünstigen die sowohl durch metabolische als auch durch Umwelteinflüsse stattfindende Fettakkumulation in den Hepatozyten und so eine Inflammation, den Zelluntergang und die Fibrogenese in der Leber (71). Diese

genetischen Faktoren werden für die unterschiedlichen Krankheitsprogressionen verantwortlich gemacht und erklären, warum manche Patienten ausschließlich eine NALFD entwickeln, andere in eine NASH fortschreiten und wieder andere bereits initial mit Inflammation und Fibrose vorstellig werden (40).

In einer genomweiten Assoziationsstudie einer NAFLD-Kohorte konnte eine Patatin-like phospholipase domain containing protein 3 (PNPLA3) Variante als Risikofaktor für das gesamte Spektrum der NAFLD festgestellt werden (72, 73).

Mancina et al. konnten in einer Studie belegen, dass NAFLD-Patienten eine gesteigerte DNL haben. Individuen mit einer PNPLA3 148M Sequenz Variation zeigen trotz erhöhter TG-Werte in der Leber eine Reduktion der DNL. Aufgrund dieses Paradoxons liegt es nahe, dass Mutationsträger des PNPLA3-Gens auf Grundlage anderer Mechanismen eine Lebersteatose entwickeln. Dies impliziert, dass die DNL kein alleiniger Schlüsselmechanismus für die Entwicklung einer Lebersteatose ist (74). Neben einer Mutation des PNPLA3-Gens, sind auch weitere Gene wie beispielsweise TM6SF2 und HSD17B13 mit der Entwicklung einer NAFLD assoziiert (71). Die beschleunigte Progression der NAFLD kann mit bestimmten Einzelnukleotid- Polymorphismen (SNP, engl. Single Nucleotide Polymorphism) assoziiert werden (75).

Eine weitere Studie zeigte, dass bei progressiver fibrosierender Steatohepatitis zu transkriptomischen Veränderungen in den Leberzellen kommt und die Expression von Proteinen wie dem AKR1B10 und GDF15 hochreguliert wird. Diese sind mit einer stärkeren Krankheitsaktivität und dem Fibrorestadium assoziiert (76).

Auch wenn genetische Faktoren einen entscheidenden Faktor in der Entstehung der Fettlebererkrankung darstellen, nehmen diese in der klinischen Betrachtung und Therapieentscheidungsfindung für den Patienten, aufgrund mangelnder Therapieoptionen einen untergeordneten Stellenwert ein (61).

2.2.4 Metabolische Inflammation

Die in der NAFLD befindliche übermäßige Akkumulation von TG in der Leber führt, wie bereits erwähnt zu einem Anstieg der ROS. ROS führen zu einer mitochondrialen Dysfunktion und Stress im Endoplasmatischen Retikulum mit weiterer Produktion von ROS (77). Diese münden in oxidativen Stress mit verstärkten Entzündungsreaktionen im Leberparenchym. Die ausgelösten Veränderungen, wie

ROS, Änderungen in Immunzelluntergruppen und Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine, der Leberschädigung sind für die Schädigung peripherer Gewebe und Organe verantwortlich (42). Die dysfunktionalen Veränderungen in diesem System werden mit dem Begriff der „Immunstoffwechselstörung“ oder „metabolischen Inflammation“ beschrieben (78). Weitere Triggerfaktoren für die metabolische Inflammation sind die Lipotoxizität, IR, bakterielle Endotoxine und Adipokine (79). Es gibt Hinweise, dass die NAFLD zum Teil aus der metabolischen Inflammation resultiert, zum anderen auch Ursache dieser ist (38, 56). Weitere systemische Effekte der metabolischen Inflammation äußern sich in DM2, chronisch vaskulären Erkrankungen (CVD), chronische Nierenerkrankungen und eingeschränkten neurokognitiven Funktionen. Die metabolische Inflammation erklärt den Zusammenhang der NAFLD mit extrahepatischen Erkrankungen (80).

2.3 Epidemiologie

2.3.1 Prävalenz und Inzidenz der NAFLD

Die NAFLD ist eine weltweit verbreitete Erkrankung mit einer Prävalenz von 25,24% (95% Konfidenzintervall (KI): 22.10-28.65) in der Bevölkerung. Die höchste Prävalenz findet sich im mittleren Osten und in Süd- Amerika und die geringste in Afrika (21).

Durch die verbesserten Behandlungsmöglichkeiten von viralen Hepatitiden und deren Rückgang ist die NAFLD die einzige Lebererkrankung mit einer wachsenden Prävalenz über die letzten 30 Jahre in den USA. Die Prävalenz der NAFLD stieg von 20.0% in den Jahren 1988 bis 1994, zu 28.3% in den Jahren 1999 bis 2004, zu 33.2% in den Jahren 2009 bis 2012 und schlussendlich zu 31.9% in den Jahren 2013 bis 2016 (81).

Estes et al. berichten in ihrem Report, welcher auf Grundlage des Markov Modells eine Prognose der NAFLD Erkrankung bis zum Jahr 2030 erstellte, über eine steigende Inzidenz von 21% der NAFLD- und bis zu 63% der NASH Fälle. Dies führt zu einer Prävalenz der NAFLD von 33,5% und der NASH von 27% in der Gesamtbevölkerung (5, 82). Derzeit leiden 3 – 6% der US-Bevölkerung unter einer NASH (83). Hiernach wird auch die Rate der schweren Fälle signifikant zunehmen. Prognostiziert wird eine steigende Inzidenz der dekompensierten Leberzirrhose um

168%, des Hepatozellulären Karzinoms (HCC) um 137% und der leberbezogenen Mortalität um 178% bei NAFLD Patienten (82).

Nicht alle Patienten, welche an einer NAFLD oder NASH erkrankt sind, entwickeln eine fortgeschrittene Lebererkrankung (4). Eine fortgeschrittene Lebererkrankung beinhaltet eine fortgeschrittene Leberfibrose, -zirrhose oder die Entwicklung eines HCC. Vor allem die NASH ist mit einer Progression in eine Leberzirrhose und deren Komplikationen assoziiert. Etwa 20% der NASH- Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose oder kompensierten Zirrhose entwickeln über einen Zeitraum von 2 Jahren eine Zirrhose bzw. eine Dekompensation (84). Im Zusammenhang mit der hohen Prävalenz der NAFLD von 25% in der Bevölkerung und der prognostizierten steigenden Inzidenz der NAFLD und NASH resultiert eine relevante Morbidität (1).

2.3.2 Mortalität

Die Mortalitätsrate bei NASH Patienten ist im Vergleich zu der Normalbevölkerung oder bei Patienten mit einer einfachen NAFLD-Erkrankung wesentlich höher. Die jährliche Gesamtmortalitätsrate mit einer NASH beträgt 25,56 pro 1000 Personenjahre und einer leberspezifischen Sterblichkeitsrate von 11,77 pro 1000 Personenjahre (83).

Die sechs Haupttodesursachen, nach Häufigkeit gegliedert, bei Patienten mit einer NAFLD in den USA sind: Leberzirrhose, kardiovaskuläre Erkrankungen, nicht-leberspezifischer Krebs, HCC, DM2 und Lungenerkrankungen (85). Eine NAFLD erhöht in Frauen das Risiko an Brustkrebs und bei Männern das Risiko an Genitalkarzinomen zu erkranken. Die Auftretenswahrscheinlichkeit von Hautkrebs ist in beiden Geschlechtern erhöht (86).

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind eine der führenden Mortalitätsursachen bei Patienten mit einer NAFLD (87, 88). Rund 83% dieser kardiovaskulär- bedingten Todesfälle, sind durch eine Verbesserung der Gesundheitsparameter, wie einer optimalen Blutzuckereinstellung und Hypertoniebehandlung verhinderbar (89). Bestärkt wird diese Aussage darin, dass NAFLD-Patienten mit der vollen Ausprägung des metabolischen Syndroms im Vergleich zu NAFLD Patienten ohne dessen vollen Ausprägung, ein signifikant geringeres Gesamtüberleben haben und einem höherem Mortalitätsrisiko ausgesetzt sind (90).

Die leberspezifische Mortalität der NAFLD und NASH hat unterschiedliche Gründe. Zum einen versterben Patienten mit einer NAFLD beziehungsweise NASH an den fibrotischen bis hin zu zirrhotischen Umbauten der Leber, welche zu einem Organversagen führen können, zum anderen versterben die Patienten an den Folgen eines HCC (85).

Ein erhöhter Fibrosegrad der Leber ist direkt mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (12). Dulai et al. beschreiben überdies einen exponentiellen Zusammenhang zwischen Fibrosestadium und Mortalität (11).

Das HCC ist weltweit eine der Tumorerkrankungen mit der höchsten Mortalität (91). Jedes Jahr erkranken rund 840.000 Menschen neu an einem HCC und 780.000 versterben an dessen Folgen (92). Aufgrund des schleichenden Charakters und der fehlenden bis späten klinischen Ausprägung kann die Diagnose eines HCCs häufig erst in einem fortgeschrittenen Stadium gestellt werden. Ein kurativer Behandlungsansatz ist zu diesem Zeitpunkt in der Regel nicht mehr gegeben. Die mittlere Überlebenszeit beträgt in einem fortgeschrittenen Erkrankungsstadium sechs Monate (93, 94). In den Jahren zwischen 2004 und 2009 waren 54,9% aller HCC Fälle durch eine Hepatitis-C-Erkrankung, 16,4% durch die alkoholische Lebererkrankung, 14,1% durch die NAFLD und 9,5% aufgrund einer Hepatitis-B-Erkrankung verursacht. Während dieses Beobachtungszeitraums konnte eine 9%-ige Steigerung der NAFLD assoziierten HCC Fälle pro Jahr beobachtet werden (95). Derzeit beträgt der Anteil der durch die NAFLD assoziierten HCC-Fälle an allen HCC-Fällen 16,2% (96). Die aktuelle Prävalenz des HCC in NAFLD Patienten beträgt bis zu 38% (97). Es wird eine Inzidenz von 0,44 pro 1000 Personen-Jahren (von 0,29- 0,66) beschrieben (21).

Sowohl eine Leberzirrhose als auch das HCC sind wichtige Indikationen für eine Lebertransplantation. In der Zusammenschau mit der steigenden Prävalenz der NAFLD, stellt die NAFLD eine der an den schnellsten wachsenden Ursachen für eine Lebertransplantation dar (96, 98, 99). In den USA war die NAFLD 2019 die zweithäufigste Indikation für eine Listung auf der Transplantationsliste; bei Frauen ohne HCC sogar die häufigste Indikation (100).

2.3.3 Assoziierte Risikofaktoren und Folgen der NAFLD

Übergewicht, DM2 sowie das metabolische Syndrom stellen die wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer NAFLD dar (4). Die NAFLD und NASH sind

mit Übergewicht (51.34%; 95% KI: 41.38-61.20), DM2 (22.51%; 95% KI: 17.92-27.89), Hyperlipidämie (69.16%; 95% KI: 49.91-83.46%), arterieller Hypertonie (39.34%; 95% KI: 33.15-45.88), und mit dem metabolischen Syndrom (42.54%; 95% KI: 30.06-56.05) assoziiert (21). Die Diagnosekriterien eines metabolischen Syndroms sind erfüllt, wenn drei der fünf folgenden Faktoren zutreffen: 1. Ein erhöhter Taillenumfang (>80cm bei Frauen und >94cm bei Männern), 2. Triglyceride >150mg/dl, 3. HDL (high density lipoprotein) <50mg/dl bei Frauen und <40mg/dl bei Männern, 4. Arterielle Hypertonie, 5. DM2 bzw. HbA1c >6,5 (3).

Obwohl Übergewicht eines der wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer NAFLD darstellt, werden laut eines systematischen Reviews und Metaanalyse von Ye et al. etwa 40% der weltweiten NAFLD- Population wird als nicht fettleibig eingestuft. Fast ein Fünftel der Patienten sogar als schlank. Trotz des normwertigen Gewichtes haben diese Patienten langfristig erhebliche leber- sowie nicht- Leber spezifische Komorbiditäten. 39% (95% KI 24,1–56,3) der nicht fettleibigen Patienten litten unter einer NASH, 29,2% (KI: 21,9–37,9) hatten eine signifikante Zirrhose über dem Stadium 2 und 3,2% (KI: 1,5–5,7) hatten eine Leberzirrhose. Die Inzidenz der leberbezogenen Mortalitätsrate beträgt innerhalb der normgewichtigen NAFLD Patienten 4,1 (KI: 1,9–7,1) pro 1000 Personenjahren. Die Inzidenz der Gesamtmortalitätsrate beträgt 12,1 (95% KI 0,5–38,8) pro 1000 Personenjahren. Zu den nicht Leberspezifischen Komorbiditäten zählen Diabetes, neu- aufgetretene Kardiovaskuläre Erkrankungen sowie ein neu diagnostizierter Bluthochdruck (101).

In einer Metaanalyse von Younossi et al. konnte festgestellt werden, dass die NAFLD bei Patienten mit einem DM2 mit bis zu 55.5% (95%, KI: 47.3-63.7) vertreten ist. Die Prävalenz der NASH unter Patienten mit einem DM2 lag in dieser Studie bei 37,3% (95%, KI: 24.7-50.0%). Daraus schlussfolgerten die Autoren, dass DM2 einen zusätzlichen wichtigen Risikofaktor für die schnelle Progression der Lebererkrankung darstellt (102). So haben Patienten mit einem DM2 ein zweifach höheres Risiko eine fortgeschrittene Lebererkrankung zu entwickeln (4). Trotz diesen bekannten Zusammenhangs ist in Deutschland die kodierte Prävalenz der NAFLD in DM2 Patienten bei nur 7,8% gegeben (103).

Weitere Komorbiditäten von Patienten mit einer NAFLD und NASH sind chronische Nierenerkrankungen, Schlafapnoe und kardiovaskuläre Erkrankungen (104).

Die NAFLD und das Auftreten einer chronischen Nierenerkrankungen besitzen in ihrer Pathogenese einige ähnliche Risikofaktoren. Paik et al. ermittelten in ihrer Studie, welche den Zusammenhang steigender Mortalität in NAFLD-Patienten und verschiedenen Stadien der chronischen Nierenerkrankung untersuchten, eine Prävalenz chronischer Nierenerkrankung in NAFLD Patienten von 11,31%. Das Auftreten chronischer Nierenerkrankung der Stadien 1,2 und 3a ist bei NAFLD Patienten im Vergleich zu nicht-NAFLD Patienten erhöht. Höhergradige Stadien (3b, 4, 5) sind hingegen in Ihrer Prävalenz gleichverteilt. In NAFLD Patienten ist das Vorhandensein einer chronischen Nierenerkrankung der Stadien 2-3a (HR (hazard ratio) = 2.31, 95% KI: 1.70-3.15) und der Stadien 3b- 5 (HR = 4.83, 95% KI: 2.40-9.71) mit einer unabhängigen erhöhten Gesamtmortalität verbunden (105). In einer weiteren Studie zu diesem Thema von Kaps et al. ist die NAFLD mit einem HR von 1.58 und einem $p < 0.001$ signifikant mit einer chronischen Nierenerkrankung assoziiert. Diese Verbindung kann in allen Altersgruppen sowie bei Patienten mit DM2 oder arterieller Hypertension nachgewiesen werden (106). Eine weitere große und aktualisierte Metaanalyse bestätigte den Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der NAFLD und dem Risiko für das Vorliegen einer chronischen Nierenerkrankung mit einem Stadium von >3 (107).

Patienten mit einer NAFLD erkranken signifikant häufiger an den aufgeführten metabolischen Risikofaktoren. Nicht nur metabolische Risikofaktoren allein bedingen ein erhöhtes Risiko an kardiovaskulären Erkrankungen, wie beispielsweise einer koronaren Herzerkrankung (KHK), einem Myokardinfarkt (MI) und Vorhofflimmern (VHF) zu erkranken, sondern auch die NAFLD stellt einen unabhängigen Risikofaktor für diese Erkrankungen dar (108). Es werden verschiedene Faktoren für diesen Zusammenhang verantwortlich gemacht: Die in der Pathogenese der NAFLD es oftmals vorherrschende Insulinresistenz (IR), die systemische Inflammation, verschiedene pro-inflammatorischen Cytokine und Adipokine, ein erhöhtes Aufkommen an oxidativem Stress, genetische Varianten und eine intestinale Dysbiose fördern das Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen (109, 110). Weitere Analysen zeigen, dass NAFLD Patienten im Vergleich zu Nicht- NAFLD Patienten ein signifikant höheres Aufkommen von subklinischer Atherosklerose haben. Dies bedingt abermals die erhöhte Auftretenswahrscheinlichkeit von kardiovaskulären Folgeerkrankungen (111, 112).

Unabhängig von den zum Teil modifizierbaren Risikofaktoren (Übergewicht, DM, arterielle Hypertonie, Dyslipidämie) einer NAFLD, sind auch intersexuelle Unterschiede in dem Erkrankungsrisiko bekannt. Allgemein gesprochen, erkranken Männer häufiger an einer NAFLD als Frauen im reproduktiven Alter (113, 114). Dieser Unterschied verringert sich im Laufe des Lebens der Frau. Nach der Menopause erkranken Frauen häufiger an einer NAFLD als Männer. Östrogen erscheint somit ein protektiver Faktor für die Ausbildung einer NAFLD (115). Im direkten Vergleich von prämenopausalen zu postmenopausalen Frauen ist die NAFLD nur halb so häufig vertreten (odds ratio [OR], 2.05; 95% KI 1.43–2.94; $P < 0.05$). Unter hormoneller Substitutionstherapie in der Menopause findet sich die NAFLD signifikant seltener als bei Frauen ohne diese Therapie (116). Auch die Rate an progressiveren Verläufen der NAFLD unterscheidet sich zwischen den Geschlechtern: Die Mortalitätsrate von Frauen mit einer NAFLD ist in den letzten Jahren schneller gestiegen als die von Männern (85). Die NASH ist bei Frauen die Hauptindikation für eine Lebertransplantation (117).

2.4 Sozioökonomische Folgen der NAFLD

Die NAFLD hat nicht nur, auf der individuellen Ebene, für Patienten, sondern auch auf sozioökonomischer Ebene einen hohen Stellenwert. Patienten mit einer NAFLD sind im Alltag teilweise schwerst-beeinträchtigt und erzeugen sowohl direkte medizinische Kosten, nicht direkte medizinische Kosten und indirekte Kosten für die Gesellschaft. In der „Global Assessment of the Impact of NASH- (GAIN)“- Studie wurde die sozioökonomische Belastung der NASH in Europa und den USA untersucht. Die national höchsten Kosten pro Patienten wurden in den USA errechnet, die geringsten in Frankreich. Die Kosten pro Jahr pro Patienten mit NASH werden für direkte medizinische Kosten auf 2.763€, für indirekte medizinische Kosten auf 5.509€ sowie für Kosten, die keine direkten medizinischen Kosten darstellen auf 4.917€ geschätzt. Bei fortgeschrittener Fibrose und Dekompensation mit Krankenhausaufenthalt kommt es zu einem weiteren Anstieg der Kosten (118). Ein Großteil der sozioökonomischen Kosten entstehen in späten Krankheitsstadien der NASH (7).

Indirekte Kosten entstehen durch Verlust der Arbeitskraft, beispielsweise aufgrund von Krankmeldungen und Senkung der Produktivität. Patienten mit einer NAFLD, vor allem aber einer NASH, leiden häufig unter einer eingeschränkten Lebensqualität,

welche zusätzlich die gesellschaftliche Belastung aufgrund von Arbeitsausfällen und Senkungen in der Produktivität durch Patienten mit NAFLD erhöht (119, 120). Bei NAFLD Patienten mit DM2 sind die Kosten besonders hoch. Die durchschnittlichen Kosten der letzten zwanzig Jahre betragen für diese Personengruppe 55,8 Billionen US-Dollar. Ursächlich hierfür sind rund 65.000 Lebertransplantationen, 1,37 Millionen kardiovaskulär bedingte Tode und 812.000 leberbezogene Tode (121).

Die steigende Anzahl an Publikationen zum Thema NAFLD und NASH weist auf die steigende Bedeutung im Bereich der Hepatologie hin. In den letzten 20 Jahren (1980 bis 2018) ist ein exponentielles Wachstum von Veröffentlichungen zu verzeichnen (122).

2.5 Diagnostik der NAFLD und NASH

2.5.1 Einführung

Durch die hohe Prävalenz und den progressiven Charakter der NAFLD ist ein Screening von potenziell gefährdeten Patienten in der Bevölkerung entscheidend (17). Risikopatienten können durch ein systematisches Screening Programm profitieren, da so frühzeitig Lebensstilinterventionen eingeleitet werden können, um ein Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern (123, 124). Aktuelle Leitlinien der American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), dem National Institute for Health and Care Excellence (NICE) und der European associations for the study of the liver, diabetes and obesity (EASL-EASD-EASO) empfehlen die Etablierung eines solchen Screenings (16). Ein Screening für das Vorliegen einer NAFLD in der Allgemeinbevölkerung wird zufolge der aktuellen S2k- Leitlinien jedoch nicht empfohlen (125).

2.5.2 Diagnostisches Vorgehen

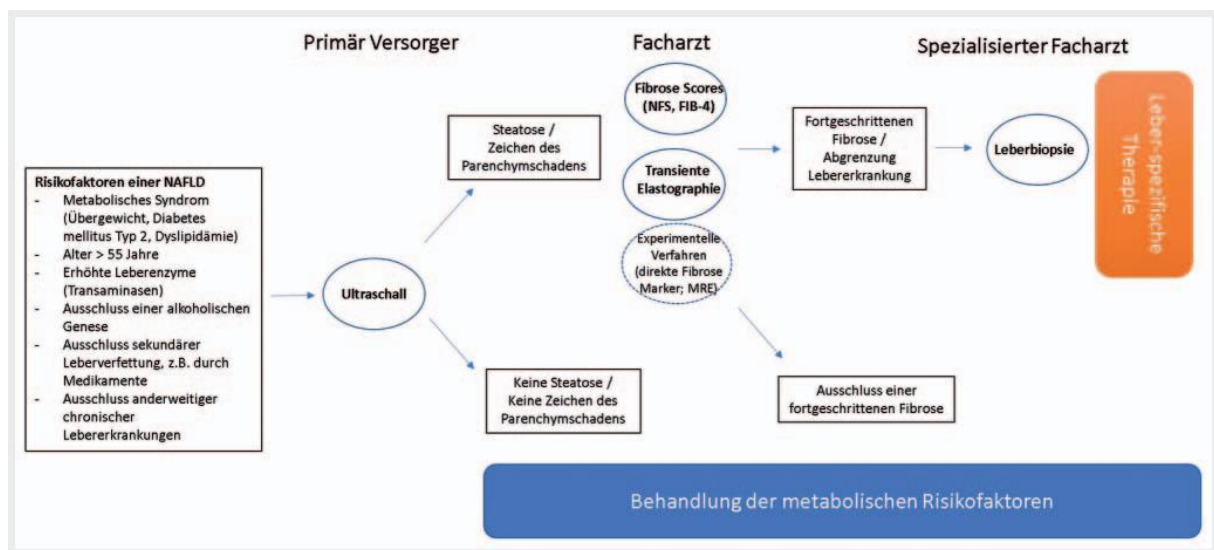


Abbildung 1: Diagnostisches Vorgehen bei Verdacht auf eine NAFLD

Primär wird bei Risikopatienten, in der ambulanten Versorgung ein nichtinvasives Screening auf eine Steatose mithilfe eines Ultraschallgerätes empfohlen. Bei Auffälligkeiten sollte der Patient in die Hepatologie überwiesen werden. Dort erfolgt eine Risikoabschätzung mithilfe weiterer spezifischerer serologischer Scores (Fib-4 und NFS Score) zur Abschätzung des Fibrosierisikos. Bei hohem Risiko auf eine mittlere bis fortgeschrittene Fibrose wird eine Leberbiopsie durchgeführt, welche für die weitere Therapieplanung wegweisend ist.

Grafik aus Michel und Schattenberg(126)

Das einfachste und kostengünstigste Diagnoseverfahren einer Lebersteatose stellt die Ultraschalluntersuchung dar. Die Sonographie hat bei einem Fettanteil der Leber von mindestens 30% eine Sensitivität von über 90% eine Steatohepatose zu diagnostizieren, diese sinkt bei einem geringeren Fettanteil signifikant (127). Die Spezifität beträgt in Bezug auf die Detektion einer Leberverfettung 94% (128). Nachteil der Sonographie ist, dass dieses bildgebende Verfahren den Unterschied zwischen einer einfachen Steatose, dem Grad der Fibrose oder Steatohepatitis nicht differenziert (129). Dennoch ist die Sonographie aufgrund der hohen Spezifität zum Ausschluss einer relevanten Leberverfettung ein wertvolles Diagnostikum im Alltag (128).

Der Nachweis einer Steatose allein ist nach Angaben der AASLD wenig aussagekräftig für den Krankheitswert der NAFLD, da vor allem das Vorhandensein von Inflammation und Fibrose die Progression der NAFLD präsentiert (17). Derzeitige laborchemische und bildgebende Technologien sind noch nicht in der Lage, die Diagnose einer Steatohepatitis zu stellen. Die aktuelle Strategie sieht eine Kombination aus Labor-Scores und Bildgebung vor (130).

Da im Vergleich zu der NAFLD die NASH mit einer schnelleren Progression zu einer Leberfibrose, Leberzirrhose und auch dem HCC einhergeht, ist bei Verdacht oder entsprechender Risikokonstellation eine weiterführende Diagnostik indiziert (43).

2.5.3 Die Leberbiopsie

Die Diagnose einer NASH erfordert ein histopathologisches Muster, welches Steatose, Inflammation und hepatozelluläres Balloning beinhaltet (131). Trotz der raschen Entwicklung neuer nicht-invasiver Tests, verbleibt die Leberbiopsie aufgrund der fehlenden Möglichkeit zur Unterscheidung der einfachen Steatose von der NASH, sowie der Feststellung des histologischen Fibrorestadium derzeitiger Goldstandard (132). Das histologische Fibrorestadium hat eine prognostische Relevanz in der Mortalität von Patienten und wird derzeit im Zusammenhang mit der Entwicklung von Medikamenten als Endpunkt für konditionelle Zulassungen akzeptiert (133-135). Dennoch unterliegt die Leberbiopsie einigen Limitationen: Die Leberbiopsie ist ein invasiver Eingriff, der zu OP-Risiken wie Infektionen, Blutungen, Verletzungen von Hohlorganen und Schmerzen führen kann (13, 136). Des Weiteren führt die Leberbiopsie zu einer Mortalitätsrate von bis zu 0.33% (137). Bis zu 30% der biopsierten Patienten berichten von signifikanten Schmerzen (138). Die Gewebeprobe, von ca. 1/50000 bei einer üblichen Leberbiopsie, birgt zudem die Gefahr eines Probeentnahmefehlers und somit einer inkorrekten Diagnosestellung („Sampling-Error“) (139, 140). Ebenso kann es bei der Interpretation der Gewebeprobe zu einer Variabilität sowohl innerhalb als auch zwischen den Beobachtern kommen (133, 141, 142). Ein Aspekt für die Durchführung einer Leberbiopsie ist die sichere Abgrenzung zu anderen Lebererkrankungen und Differentialdiagnosen wie z.B. der Morbus Wilson, eine Hämochromatose oder autoimmune Lebererkrankungen (143).

Um eine definitive und effektive Diagnose einer NAFLD mit dem Grad der Steatose, Inflammation, Leberzellschäden (wie Ballonierung) sowie Fibrose festzustellen, sind verschiedene histologische Scoringsysteme entwickelt worden.

Eines dieser Scoring-Systeme ist der NAFLD-Activity-Score (NAS-Score). Dieser wurde im Jahre 2005 von dem pathologischen Komitee des NASH Clinical Research Network entwickelt (135). In diesem Scoring-System werden 14 histologische Features berücksichtigt, vier von diesen Features können semi-quantitativ dargestellt werden: Steatose (0-3), Lobuläre Inflammation (0-2), Hepatozelluläres Ballonieren

(0-2) und Fibrose (0-4). Der geschätzte NAS wird aus der Summe dieser semiquantitativen Faktoren zusammengesetzt. Der NAS kann Werte zwischen 0 und 8 annehmen. Ab einer Summe von >5 wird die Diagnose einer NASH gestellt. Alle Biopsien mit einem geringeren Punktwert als 3 werden mit „nicht- NASH“ diagnostiziert. Der NAS-Score stellt allerdings nicht das ganze Krankheitsspektrum der NAFLD dar (135).

Um das ganze Spektrum der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung darzustellen können Pathologen auf den SAF-Score zurückgreifen. Dieser wurde 2012 von Bedossa et.al entwickelt. Der semiquantitative SAF-Score evaluiert Steatose (S, S0-S3), Aktivität (A, A0-A4) und Fibrose (F, F0-F4). (144, 145).

2.5.4 Diagnose der Fibrose anhand von Labor-Scores

Von großer Relevanz in der Diagnosestellung einer nichtalkoholischen Fettlebererkrankung ist der Grad der Fibrose. Das Stadium bzw. der Grad der Leberfibrose allein korreliert exponentiell mit der leberbezogenen Mortalität und beeinflusst die Lebensqualität (9, 11, 12, 21, 79, 139, 146-148). Es kann derzeit auf eine Vielzahl von nicht-invasiven Labor-Scores, welche auf Grundlage serologischer Surrogat-Parametern eine Korrelation zu dem Grad der Fibrose in NAFLD-Patienten darstellen, zurückgegriffen werden (43, 149).

2.5.4.1 Indirekte Fibrosemarker

„Indirekte Marker“ wie beispielsweise die gängigen biochemischen Parameter Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), Gamma-Glutamyltransferase (γGT) oder die Thrombozytenzahl zeigen eine geringe diagnostische Sicherheit zur Evaluation des Vorhandenseins einer Leberfibrose. In einer retrospektiven Studie von Skelley et al. mit einer Stichprobe von 222 Patienten war es nicht möglich, eine bioptisch gesicherte Leberfibrose durch die ALT und AST zu erkennen. In Patienten, welche aufgrund erhöhter Leberenzyme (ALT und γGT) eine Leberbiopsie erhielten, fand sich nur in 26% der Fälle eine Leberfibrose. 6% der Patienten hatten eine histologisch normale Leber (150). Die Sensitivität des ALT-Wertes ist bei der Erkennung einer NASH oder einer fortgeschrittenen Fibrose gering (151, 152). Für die Vorhersage des Schweregrades der Leberfibrose ist jedoch die Thrombozytenzahl ein guter Biomarker. Sie sinkt mit steigendem histologischen Schweregrad der Leberfibrose linear (153).

2.5.4.1.1 Aspartate Aminotransferase-to-Platelet-Ratio-Index (APRI- Score)

Der APRI ist ein nicht-invasiver Marker zur Evaluation einer Leberfibrose. Er wird primär als diagnostisches Tool bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis-C oder -B eingesetzt (154, 155). Der APRI wird anhand der AST, der Thrombozytenzahl und des Geschlechts errechnet. Bei Werten über 1,5 ist eine Fibrose wahrscheinlich, bei Werten unter 0,5 kann diese praktisch ausgeschlossen werden. Der Schwellenwert für eine Leberzirrhose liegt bei >2. Die Sensitivität liegt bei 76% und die Spezifität bei 69%. Der positiv-prädiktive Wert liegt bei 54% und der negativ-prädiktive Wert bei 93% (155). Der APRI wurde bei 111 NAFLD-Patienten validiert und war in dieser Patientenkohorte bei fortgeschrittener Fibrose signifikant erhöht (156). Der APRI-Score ist ein geeignetes Tool, um eine fortgeschrittene Fibrose auszuschließen, für deren Diagnosestellung er aufgrund des niedrigen Positiv-Prädiktiven-Wertes, zu ungenau.

2.5.4.1.2 NAFLD-Fibrosis-Score (NFS- Score)

Der NFS- Score basiert auf demographischen, klinischen sowie laborchemischen Variablen. Zu diesen gehören: Alter, Hyperglykämie in Form eines DM, Body-Mass-Index (BMI), Thrombozytenzahl, Serumalbumin sowie die AST/ ALT Ratio (157). Der Cut-Off-Wert von weniger als -1.455 schließt eine fortgeschrittene Fibrose mit einer Sensitivität von 51% und einer Spezifität von 98% aus (158). Der negativ prädiktive Wert in Bezug auf eine fortgeschrittene Leberzirrhose liegt zwischen 88%- 93%. Mit einem NFS Wert von über 0,676 kann bei einem positiv prädiktiven Wert von 82% - 90% eine fortgeschrittene Leberfibrose angenommen werden (157). Wichtige Limitationen liegen, bei einem hohen Patientenalter in einer Unterschätzung und bei dem Vorhandensein eines Diabetes in einer Überschätzung, der errechneten Werte vor. Dennoch erlaubt der NFS eine Abgrenzung von Patienten mit- und von Patienten ohne ausgeprägter Fibrose (126).

2.5.4.1.3 Fibrosis 4 Calculator (FIB-4-Score)

Der FIB-4-Score wird aus vier Variablen, welche signifikant mit einer Leberfibrose assoziiert sind, berechnet. Er ist aus dem Alter des Patienten, AST, ALT und Thrombozytenzahl wie folgt zusammengesetzt:
$$\frac{([\text{Alter in Jahren}] \times \text{AST [U/L]})}{((\text{PLT [10}^9\text{/L]}) \times (\text{ALT [U/L]})^{1/2})}$$
 (159). Der FIB-4-Algorithmus wurde erstmals an Patienten mit einer chronischen Hepatitis-C und HIV-Infektion validiert (160). Ein FIB-4-Index <1.45 hat einen negativen prädiktiven Wert von 94,7% und eine Sensitivität von 74,3% für eine fortgeschrittene Fibrose. Ein FIB-4 Index von über 3.25 hat einen

positiv-prädiktiven Wert von 82,1 % und eine Spezifität von 98,2% um eine signifikante Fibrose (F3-F4) zu bestätigen (161). Younges et al. konnten in einer multizentrischen Langzeitstudie auf die prognostische Relevanz des FIB-4-Scores hinweisen. Mit einem FIB-4-Score von $>2,67$ zeigten Patienten ein signifikant schlechteres Überleben sowie eine höhere Inzidenz auf ein HCC (162).

Eine wichtige Einschränkung der oben beschriebenen Marker konnte von McPherson et al. in einer Studie mit 634 Patienten 2016 festgestellt werden. Die AST/ALT-Ratio, der NAFLD-Fibrosis-Score sowie der FIB-4 für fortgeschrittene Fibrose (F3-4) wurde an einer Patientengruppe zwischen 35 und 65 Jahren entwickelt und validiert. Es konnte eine Spezifität von 35% für den FIB-4 und 20% für den NFS bei über 65-jährigen Patienten festgestellt werden. Diese niedrige Spezifität macht Anwendung der Labor-Scores bei Patienten >65 Jahren inakzeptabel, da sie in einer hohen falsch-positiven Rate mündet. Dieser Zusammenhang suggeriert, dass das Alter die Anwendbarkeit von Labor-Scores beeinflusst (163).

Dennoch zeigte ein Vergleich von insgesamt 13 Studien der nicht-invasiven Laborscores (FIB-4, NFS, APRI) zur Beurteilung einer Leberfibrose, dass alle drei Marker eine gute Prognose für die leberbezogene Mortalität und Morbidität geben können (130). Der Grad der Risikostratifizierung ist mit dem der Leberbiopsie vergleichbar. In der Vorhersage von der Veränderung im Fibroestadium über die Zeit, zeigten jedoch alle drei Marker eine inkonsistente Aussagefähigkeit (164, 165).

2.5.4.2 Direkte Fibrosemarker

Eine weitere Möglichkeit eine fortgeschrittene Fibrose vorherzusagen, besteht in der Gewinnung von direkten Fibrosemarkern. Während des Progresses der NAFLD kommt es durch metabolische Inflammation zu der Aktivierung von Fibroblasten. Im Rahmen von Regenerationsprozessen wird so vermehrt extrazelluläre Matrix (ECM) produziert, welche im Umkehrschluss zu einer Zunahme der Leberfibrose beziehungsweise Leberzirrhose führt. Direkte Fibrosemarker sind Spaltprodukte der ECM, welche in den letzten Jahren als Surrogatparameter in der Diagnostik der NAFLD untersucht werden (126). Diese Spaltprodukte entstehen zum einen während der Fibrogenese, zum anderen während der Fibrolyse (166).

Das N-Terminal type III collagen propeptide (PRO-C3) ist ein Kollagenfragment, welches als individueller Marker mit dem Grad der Leberfibrose korreliert. Es entsteht während der Fibrogenese. PRO-C3 Werte im Plasma korrelieren mit dem Grad der

histologischen Steatohepatits sowie dem Stadium der Fibrose (167). Sie zeigen für die Erkennung einer höhergradigen Fibrose ähnliche Aussagekraft wie der FIB-4 Score. Seine diagnostische Genauigkeit wird in Kombination mit anderen Scores verbessert (168). Der sogenannte ADAPT- Score, erkennt Patienten mit einer fortgeschrittenen Leberfibrose (F3-F4) mit einer Sensitivität von 92% (positiver Prädiktiver Wert: 48,4%; negativer prädiktiver Wert 96,6%). Der ADAPT Score als PRO-C3 basierter Fibrose Algorithmus involviert neben dem PRO-C3, das Alter, das Vorhandensein von DM sowie die Thrombozytenzahl (169). In Kombination mit Lebersteifigkeitsmessungen kann das PRO-C3 und ADAPT eine fortgeschrittene Fibrose in Niedrigrisikogruppen zuverlässig ausschließen, wodurch die Notwendigkeit einer Leberbiopsie gesenkt werden kann (168).

Der FIBC3 und der nochmals vereinfachte ABC3D stellen auf Basis der PRO-C3 Plasmawerte zwei weitere neuartige Panels für die Bestätigung einer fortgeschrittenen Fibrose (F>3) dar. Für die Erkennung und Validierung einer Fibrose zeigte der FIBC3 eine AUROC (Area Under the Receiver Operating Characteristics) von 0,89 und 0,83. Der ABC3D zeigte eine vergleichbare diagnostische Gültigkeit von einer AUROC von 0,88 beziehungsweise 0,81 (167).

Der ELF- Test (enhanced liver fibrosis) ist ein weiterer Kombinationsscore aus mehreren Fibrosemarkern. Er verrechnet das PRO-C3, Hyaluronsäure und TIMP1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1)(170). In einer Metaanalyse von Vali et al. aus 16 Studien zeigte der ELF- Test, bei einem Grenzwert von 7,7 eine hohe Sensitivität von über 90%, um eine höhergradige Fibrose auszuschließen. Allerdings wird erst bei höheren Grenzwerten von >9,8 eine Spezifität von 90% erreicht (170).

2.5.5 Diagnose der Fibrose mittels Bildgebungsbasierender Methoden

Neben laborchemischen Surogatparametern wird, zur Beurteilung der Beschaffenheit der Leber, zunehmend auf bildgebungsbasierte Methoden, für die Diagnose einer Leberfibrose zurückgegriffen (171). Vor allem die sequenzielle Kombination von laborchemischen Surogatparametern und bildgebungsbasierten Methoden können den Bedarf an Leberbiopsien reduzieren (130).

2.5.5.1 Vibrationskontrollierte transiente Elastographie (VCTE)

Die vibrationskontrollierte transiente Elastographie (VCTE) ist in den USA die am häufigsten verwendete bildgebungsbasierte Methode zur Beurteilung der Lebersteifigkeit und erlaubt den Rückschluss auf den Grad der Leberfibrose (172).

Sie basiert auf Grundlage einer 50-Hz Vibrations- bzw. Scherwelle, welche über den Schallkopf in den Körper und das Lebergewebe gegeben wird. Die Geschwindigkeit der Wellenreflexion lässt eine Aussage zur Beschaffenheit des Gewebes zu. Je schneller die Ausbreitung der Vibrationswelle ist, desto größer ist die Steifigkeit des Lebergewebes (126).

Vorteile dieser Methode sind, die einfache und schnelle Durchführbarkeit am Krankenbett, die große Bandbreite an Steifigkeitsgraden (2,5- 75kPa), sowie eine akzeptable Reproduzierbarkeit innerhalb und zwischen den Beobachtern (173). Die VCTE wurde international bei einem weiten Spektrum von Lebererkrankungen, wie der Hepatitis-B und -C, NAFLD und der autoimmunen Hepatitis, validiert (174).

Die Sonde des VCTE wird unter Druck auf die Haut zwischen dem neunten und elften Interkostalraum aufgebracht. Die Schalleindringtiefe ist mittels verschiedener Sonden beeinflussbar. Eine zuverlässige Lebersteifigkeitsmessung wird bei zehn gültigen Messungen und einen Interquartilsbereich von < 30% des Medians definiert (173). Durch den Einsatz der XL-Sonde mit einer Eindringtiefe von 35-75mm können 95% aller Patienten vermessen werden (175).

Für den Schwellenwert von 9,9kPa ergab eine prospektive Kohortenstudie aus den USA eine Sensitivität von 95 % sowie eine Spezifität von 77 % für das Ausfindig machen von Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose (AUROC 0,93). Zuverlässige VCTE-Ergebnisse können so bei NAFLD-Patienten eine fortgeschrittene Fibrose bei mindestens 45% ausschließen und so die Durchführung eine Leberbiopsie vermeiden (173). Bei einem Cut-Off Wert von 7,9kPa ist die Durchführung einer Leberbiopsie in Betracht zu ziehen (176). Um eine Überschätzung der durch die VCTE nachgewiesenen Leberfibrose zu vermeiden, empfehlen Salvatore et al. nach einer Studie mit 253 NAFLD Patienten die Berücksichtigung der Schwere der Leberverfettung, welche entweder histologisch oder in einer Ultraschalluntersuchung nachgewiesen werden kann (177).

Einschränkungen dieser Methodik umfassen neben technischen Leistungsgrenzen:

- Patienteneigenschaften wie beispielsweise der Durchmesser des Interkostalraums und/oder Adipositas)

- variable diagnostische Performance bei verschiedenen Leberzuständen mit unterschiedlichen Cut-Offs zur Feststellung einer signifikanten Leberfibrose oder –zirrhose,
- ungenaue Messwerte bei Patienten mit einem akuten Krankheitsgeschehen, wie einer Hepatitis, Alkoholmissbrauch, Nahrungsaufnahmen innerhalb der letzten 2-3 Stunden vor der Messung, kongestiver Herzinsuffizienz und extrahepatischer Cholestase (178, 179).

Trotz der aufgeführten Schwächen dieser Methodik ist die VCTE bei den meisten NAFLD-Patienten zur Beurteilung der Lebersteifigkeit akkurat. Die VCTE ist als Screening-Instrument zum Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose nützlich und kann als Risikostratifizierungstool Kosten im Gesundheitssystem sparen (180).

2.5.6 Point shear wave elastographie (SWE) und Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI)

Die Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) sowie die Scherwellenelastographie (Point shear wave elastographie, SWE/pSWE oder 2D-SWE) sind als weitere ultraschallbasierte Methoden für die Diagnostik der Lebersteifigkeit zu nennen. Die beiden Verfahren unterscheiden sich von der VCTE hinsichtlich der ausgesendeten Scherwelle. Rückschlüsse über die Lebersteifigkeit werden durch akustische Signale gemacht (179). Die Technologie kann in ausgewählten Ultraschallgeräten integriert werden und bedarf somit keiner neuen Gerätschaft (126).

Mittels ARIF konnte in einer Studie von 172 NAFLD- Patienten eine beginnende Fibrose vom Stadium 0-2 von einer fortgeschrittene Fibrose des Stadiums 3-4 mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils 90 % (AUROC 0,90) unterschieden werden. Der angegebene Grenzwert beträgt hierbei 4,24 kPa. Ein BMI von über 40 stellt keinen limitierenden Faktor für die Durchführung einer ARIF Messung dar (181).

Für die SWE zeigte eine Kohortenanalyse aus Japan bei einem Grenzwert von 1,40 m/sec AUROC- Werte von 0,90 zur Detektion einer F3- Fibrose. Bei einem Grenzwert von 1,55m/sec fanden sich AUROC Werte von 0,95 für die Detektion einer Leberzirrhose (Stadium F4) (182). In einer Metanalyse aus neun Studien über den Einsatz von SWE bei insgesamt 982 Patienten mit einer NAFLD konnten diese Ergebnisse reproduziert werden (183). Die 2D-SWE liefert im Vergleich zu der VCTE vergleichbare akkurate Ergebnisse (184).

Trotz der guten AUROC-Werten der beiden Methoden fehlen derzeit, im Gegensatz zur VCTE, größer angelegte Studien für die Diagnostik bei NAFLD Patienten. Zudem sind die festgelegten Grenzwerte nicht vergleichbar gut untersucht (10).

2.5.7 Magnetresonanztomographie (MRT) und Computertomographie (CT)

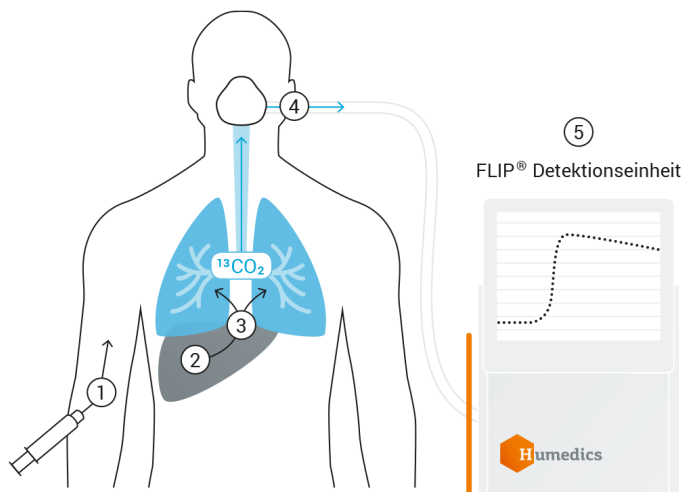
Vorteil der MRT-Diagnostik im Vergleich zu allen anderen bildgebenden Verfahren ist die besonders hohe Auflösung sowie die höchste diagnostische Genauigkeit in der Detektion einer Lebersteatose (185). Selbst eine geringgradige Leberverfettung kann mittels nativer Sequenzen (MRT proton density fat fraction; MRT-PDFF) mit hoher Sensitivität detektiert werden (186, 187). Bei der MR-Elastographie kann nach Applikation einer mechanischen Schallwelle eine fortgeschrittene Leberzirrhose (Stadium F4) mit einer AUROC $>0,95$ verlässlich diagnostiziert werden (126). Relevantester Nachteil dieser Methode sind die hohen Kosten, sowie die benötigten aufwendigen apparativen Voraussetzungen (188).

Die CT Diagnostik unterliegt einer hohen Strahlenbelastung und spielt in der Diagnostik der NAFLD eine untergeordnete Rolle. Sie besitzt eine niedrige Sensitivität zur Detektion einer Lebersteatose. Die Sensitivität steigert sich bei einem höheren Fettgehalt in der Leber. Bei einer Steatose von $>5\%$ zeigte sich eine AUROC von 0,71. Bei einer Steatose von $>33\%$ fand sich bereits eine AUROC von 0,88. Die Quantifizierung des Fibrosegrades ist durch das CT nicht möglich (189).

Obwohl es eine Vielzahl an nichtinvasiven Tests für die Diagnose der NAFLD gibt, ist die Aussicht auf den Verzicht auf eine Leberbiopsie, wie bereits erwähnt, für die Feststellung und feinschrittige Graduierung des Fibrosegrades noch nicht gegeben. Die diagnostische Genauigkeit der nicht invasiven Tests ist zu einem Großteil für die Differenzierung von gesundem Lebergewebe versus fortgeschrittener Fibrose und Zirrhose gegeben (171). Laut der American Gastroenterological Association Institut Guideline von 2017 unterliegen die VCTE (Sensitivität: 0.90, Spezifität: 0.87), der APRI (Sensitivität: 0.78, Spezifität: 0.71) und der FIB-4 (Sensitivität: 0.74, Spezifität: 0.71) inakzeptablen Verzerrungen, die auf inhärenten Beschränkungen der verfügbaren Studien beruhen. Darunter zählen Ausschlüsse adipöser Patienten ($\text{BMI} > 30\text{kg/m}^2$), der Ausschluss erfolgloser oder inadäquater Lebersteifigkeitsmessungen, welche bei NAFLD-Patienten gehäuft vorkommen und die Verwendung von Analysen nach Protokoll, anstelle von Intention-to-Diagnose-Analysen (178). Neben den Limitationen der Studien zur Validierung dieser nicht-

invasiven Marker unterliegen sie den bereits genannten Limitationen, wie beispielsweise dem Alter des Patienten und der allgemeinen Anwendbarkeit.

2.5.8 Der „Liver maximum capacity“(LiMax)-Test



- ① Venöse Injektion ^{13}C -Methacetin-Lösung
- ② Stoffwechsel Paracetamol + $^{13}\text{CO}_2$
- ③ Venöser Transport zur Lunge
- ④ Ausatmung
- ⑤ Messung und Auswertung

Abbildung 2: Funktionsweise des LiMax- Tests

Zur Durchführung des LiMax Test erfolgt zu Beginn die venöse Injektion der ^{13}C - Methacetin- Lösung. In der Leber erfolgt die Verstoffwechslung zu Paracetamol und $^{13}\text{CO}_2$. Nach venösem Transport von $^{13}\text{CO}_2$ zur Lunge und dessen Ausatmung erfolgt die Messung und Auswertung mit der FLIP- Detektionseinheit. (<https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html>)

Der ^{13}C -Methacetin-Atemtest (Euriso-top, Saint-Aubin Cedex, France), zur Evaluierung der Leberfunktion gehört, derzeit zu den am besten dokumentierten und verbreiteten nicht-invasiven Leberfunktionsdiagnostiktest weltweit (190, 191).

Der „Liver maximum capacity-Test“ (LiMax-Test) basiert auf einem leberzell-spezifischen Metabolismus von ^{13}C -markiertem Methacetin, welches intravenös als Bolus verabreicht wird. Methacetin wird in den Hepatozyten von dem Cytochrom P450 1A2 (Cyp1A2) -Enzym verstoffwechselt (192). Dieses Enzym gehört zu dem System der mikrosomalen Monooxygenasen. Cyp1A2 ist homogen in gesundem Lebergewebe vorhanden und wird in seiner Aktivität kaum durch Medikamente oder genetische Varianten beeinflusst. Ein Abfall in der Funktion des Cyp1A2-Enzyms korreliert nachweislich mit der Leberfunktion (193) und zeigt darüber hinaus eine Korrelation zu den histologischen Merkmalen einer chronischen Lebererkrankung (194).

Methacetin wird in der Leber durch Demethylierung in Acetaminophen (Paracetamol) und $^{13}\text{CO}_2$ überführt. Letzteres wird abgeatmet und bewirkt einen Anstieg in der $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration der Ausatemluft (193). Die $^{13}\text{CO}_2$ -Konzentration wird mittels der nicht-dispersiven isotopenselektiven Infrarotspektroskopie (NDIRS) (FLIP2, Humedics, Berlin, Germany) bestimmt (194).

Um eine Aussage über die $^{13}\text{CO}_2 / ^{12}\text{CO}_2$ -Ratio treffen zu können, wird vor der Injektion des Methacetins ein individueller Ausgangswert von dem Verhältnis von $^{12}\text{CO}_2$ und $^{13}\text{CO}_2$ ermittelt. Die Leberfunktion kann innerhalb von maximal 60 Minuten durch eine Analyse der Ratioänderung der CO_2 Isotope ermittelt werden. Um eine Interferenz mit ^{13}C aus der Nahrung zu vermeiden, ist eine Nahrungskarenz von mindestens 3 Stunden vor dem Test indiziert. Der Anteil von ^{13}C Molekülen beträgt in kohlenstoffhaltigen Nahrungsmitteln 1,08%(195).

Durch die intravenöse-Gewichtsadaptierte Bolus- Applikation des Methacetins kommt es zu einer raschen Substratanflutung in den Hepatozyten, welche bei einer herabgesetzten Leberfunktion eine Sättigung des CYP1A2-Enzymsystems herbeiführt (195). Von einer solchen Sättigung kann bei einer normalen Leberfunktion nicht ausgegangen werden. Auf eine höchst mögliche Umsatzrate des Enzyms, kann am Punkt der maximalen $^{13}\text{CO}_2$ - Ausatmung geschlossen werden, die dann dem erhaltenen Wert der Umsatzrate entspricht oder größer ist (192). Eine gemessene Leberfunktion von $> 315 \mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ ist nach Herstellerangaben als normal zu betrachten.

Die Ergebnisse des LiMax-Testes werden in $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ angegeben (193, 194).

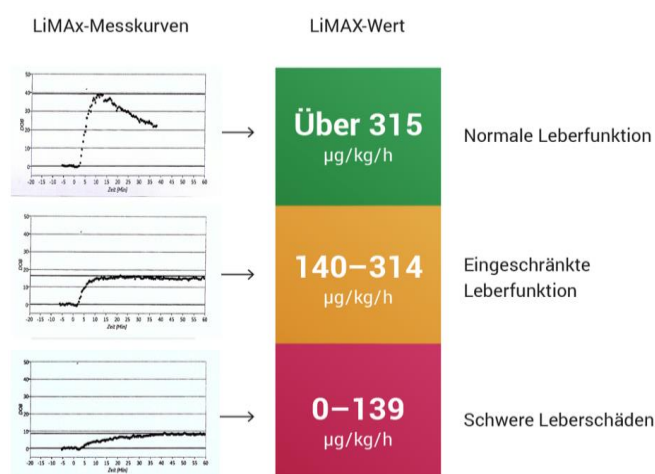


Abbildung 3: Echtzeit-Leberfunktionstest mit Hilfe des LiMAX-Wertes

Bildquelle: Humedics, „Warum LiMax“10/2019 <https://www.humedics.eu/de/warum-limax.html>

Der LiMax-Test wurde ursprünglich zur Bestimmung des Outcomes bei Patienten nach Leberteileresektion benutzt. In diesem Zusammenhang zeigt der LiMax-Test eine exzellente lineare Korrelation mit dem verbliebenden Lebervolumen (0.94 $p < 0.001$) (196).

Buechter et al. verglichen in einer Studie vom Jahre 2017 Patienten mit verschiedenen Stadien einer chronischen Lebererkrankung (Kontrollgruppe, chronische Lebererkrankung mit und ohne Zirrhose sowie einer Dekompensation) mittels des LiMax-Tests. Bei der Ermittlung des Vorhandenseins einer Zirrhose fanden sie eine Sensitivität von 86,1% und eine Spezifität von 91,3% für den LiMax-Test. Zusätzlich war der LiMax-Test in der Vorhersage der 90ig Tage Mortalität, der VCTE sowie serologischen Biomarkern überlegen (193). Darüber hinaus fand sich eine negative Korrelation von LiMax-Werten zu der Lebersteifigkeit, gemessen anhand einer „2D-time-harmonic-elastography“ ($r = -0.747$), sowie zum APRI-Score ($r = -0,604$) und dem Fib-4-Index ($r = -0,573$). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass strukturelle Veränderungen im Lebergewebe mit einer funktionellen Abnahme der Leber einhergehen (197). Mediane LiMax-Werte zeigten in einer weiteren Studie eine Tendenz zur Abnahme im Zusammenhang mit dem zunehmenden histologischen Grad der Fibrose (F0: 446,5 [381,0-592,5] $\mu\text{g/h/kg}$, F1: 405,0 [343,0-547,0] $\mu\text{g/h/kg}$, F2: 337,0 [250,0-394,0] $\mu\text{g/h/kg}$, F3: 281,0 [262,0-364,0] $\mu\text{g/h/kg}$ und F4: 181,5 [130,0-256,5] $\mu\text{g/h/kg}$). Auch in der Erkennung verschiedener Fibrotestadien scheint der LiMax-Test der VCTE, dem FIB-4-Index und dem APRI überlegen zu sein (194).

Eine aktuelle Studie aus 2020 von Schmitz et al. beschäftigte sich mit der Evaluation der NAFLD und der Fibrose in übergewichtigen Patienten in verschiedenen histologischen und klinischen Scoring-Systemen. In dieser Studie konnte der LiMax-Test, im Vergleich mit anderen histologischen und klinischen Scoring-Systemen nicht hinreichend zwischen den verschiedenen Fibrotestgraden differenzieren, wohl aber einen signifikanten Zusammenhang von der Leberfunktion zwischen NASH und „Nicht-NASH“ (365 vs. 225 $\mu\text{g/h/kg}$; $p < 0.0001$) finden. Unter Zuhilfenahme des NAS konnte für die Differenzierung von NASH und „Nicht-NASH“ durch den LiMax-Test eine Sensitivität und Spezifität von 80% und 83% festgestellt werden. Für den SAF ergibt dies eine Sensitivität und Spezifität von 79% und 82 % (159). Eine solche Korrelation von histologischen und klinischen Scoring-Systemen zu LiMax-Werten konnten auch Alizai et al. bei adipösen Patienten feststellen (198). Dieser Befund

scheint die erhöhte metabolische Aktivität des Cytochrom-P-450- Systems widerzuspiegeln, welche bei NASH-Patienten unabhängig von der Verwendung bekannter Induktoren der mikrosomalen Aktivität (z.B. chronischer Alkoholabusus oder Medikamente) vorzufinden ist (39).

Im Gegensatz zu den serologischen Fibrosemarkern, wie beispielsweise dem APRI oder Fib-4-Index, variiert die Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test nicht mit dem Alter (199).

2.6 Lebensqualität bei Patienten mit einer NAFLD/ NASH

Patienten mit einer chronischen Lebererkrankung leiden häufig unter unspezifischen Symptomen. Betroffene berichten von Müdigkeit, Gelenk- oder Muskelschmerzen, Appetitverlust, Verdauungsproblemen, Depressionen, Angstzuständen oder anderen emotionalen Problemen. Diese haben signifikante Auswirkungen auf ihre Lebensqualität und das Wohlbefinden (200).

Die gesundheitsbezogene Lebensqualität (HRQL =Health related quality of life) stellt ein multidimensionales Konzept dar, welches aus subjektiv bewerteten Domänen des alltäglichen Lebens zusammengesetzt ist und im Kontext der Erkrankung und deren Therapie betrachtet wird. Diese Domänen beinhalten physische, emotionale, mentale sowie soziale Bestandteile des Lebens (201). Verschiedene Studien konnten eine signifikante Einschränkung der HRQL bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen belegen (200-204). So ist auch die NAFLD mit einer Einschränkung der HRQL assoziiert (205). Im Vergleich zur Normalbevölkerung erfahren Patienten mit einer NAFLD vor allem in Bereichen der physischen Funktionalität eine Einschränkung in ihrer Lebensqualität (206, 207). Bei Fortschreiten der Erkrankung, zum Beispiel einer NASH oder einer NASH-assoziierten Zirrhose, sind stärkere Einschränkungen in der physischen Funktionalität zu vermerken (208-210). Eine fortgeschrittene Leberfibrose verschlechtert darüber hinaus das PRO und ist mit einem allgemein schlechteren körperlichen Gesundheitszustand der Patienten verbunden (211).

In einer prospektiven Studie aus Großbritannien wurde das Drei-Jahres-Outcome von Patienten mit einer alkoholischen Lebererkrankung (ALD), einer NAFLD und einer Kontrollgruppe verfolgt. Patienten mit einer ALD und NALFD haben in allen Bereichen eine signifikante Einschränkung ihrer HRQL. Patienten mit einer ALD

waren stärker beeinflusst als NAFLD-Patienten. Vor allem die eingeschränkte physische Funktionalität war in diesem Drei-Jahres-follow-up mit einem Anstieg der Mortalität assoziiert (212). Bei NAFLD-Patienten sind Alter, Müdigkeit, autonome Dysfunktion und kognitive Einschränkungen vorhersagende Faktoren für eine Verschlechterung der physischen Funktionalität (213).

Zusätzlich gibt es Hinweise darauf, dass Patienten mit einer NAFLD, aber vor allem einer NASH einer schlechteren HRQL ausgesetzt sind, als Patienten mit anderen chronischen Lebererkrankungen, wie beispielsweise einer chronischen Hepatitis-C- oder Hepatitis-B-Erkrankung (214, 215). Younossi et al. verglichen HRQL Werte von Patienten mit einer chronischen Hepatitis-C-Erkrankung mit denen von NASH-Patienten. Patienten mit einer NASH haben im Vergleich zu Patienten mit einer chronischen Hepatitis-C-Erkrankung signifikant niedrigere HRQL bezogen auf ihre physische Gesundheit, bestehend aus physischer Funktionalität, Schmerzen, generelle Gesundheit, Aktivität und Müdigkeit (214).

Aufgrund der Darstellung des HRQL als multidimensionales Konzept, spielen in dieser Betrachtung ebenso extrahepatische Komorbiditäten der NAFLD eine Rolle. Neben dem Nachweis einer lobulären Entzündung korrelierte das Alter, das Geschlecht und das Vorliegen eines DM2 mit einer niedrigeren HRQL (9, 216). Zusätzlich leiden rund 27,2% der NAFLD-Patienten unter einer Depression. Im Vergleich zur Bevölkerung ohne NAFLD stellt dies eine circa vierfach höhere Prävalenz (27,2% vs. 6,7%) hinsichtlich einer Depression dar. Die Depression hat einen großen Einfluss auf die Lebensqualität und das PRO (190).

Labenz et al. konnten in einer großen Kohortenstudie die NAFLD als unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung von Angstzuständen und Depression identifizieren. Vor allem jüngere NAFLD-Patienten haben ein höheres Risiko eine Angststörung zu entwickeln (217).

Auch Faktoren der Pathogenese der NALFD sind mit einer schlechten psychischen Gesundheit in Verbindung zu bringen. So ist beispielsweise der Konsum von hochkalorischen- ballaststoffarmen Lebensmitteln, sowie der gesteigerte Konsum von Fructose, gesättigten Fettsäuren und industrialisierten Lebensmitteln, und dessen Folgen daraus sowohl mit der Genese der NAFLD als auch mit einer schlechten psychischen Gesundheit assoziiert (218).

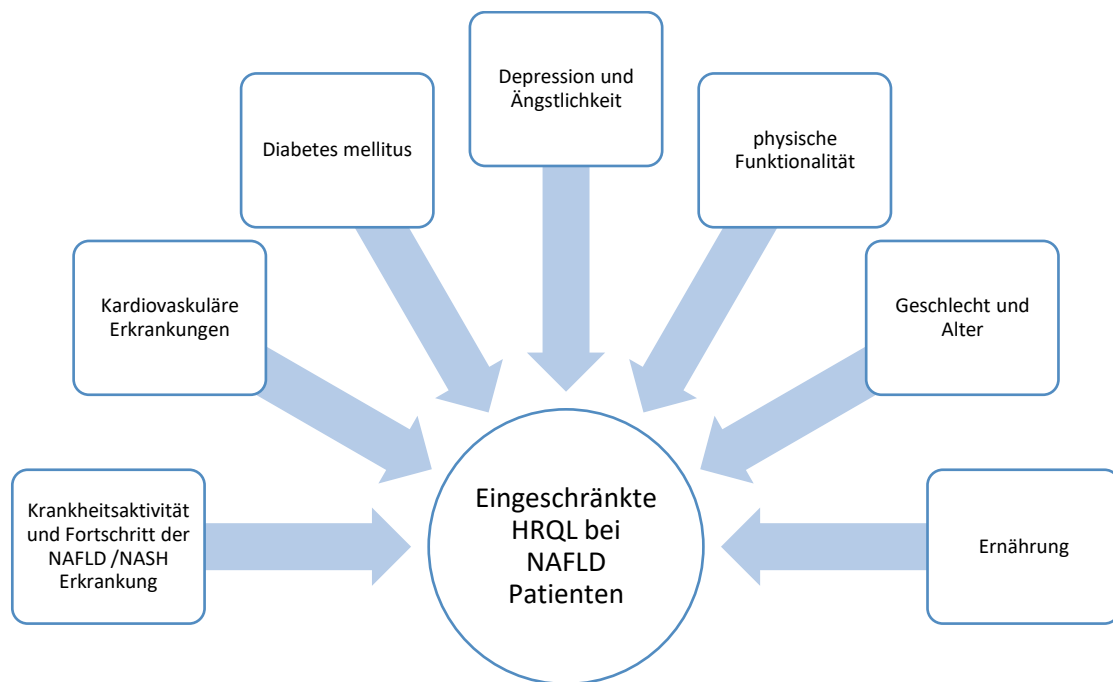


Abbildung 4: Einflussfaktoren der HRQL bei NAFLD-Patienten

Dargestellt sind eine Vielzahl von Einflussfaktoren der HRQL bei NAFLD.

Ein NAFLD/NASH-spezifischer Fragebogen zur Ermittlung der HRQL ist der Chronic-Liver-Disease-Questionnaire (CLDQ). Der CLDQ-NAFLD beinhaltet 36 Items, welche in sechs Domänen zusammengefasst sind: Abdominelle Symptome, Aktivität, emotionale Gesundheit, Müdigkeit, systemische Symptome sowie Sorgen (219).

Der CLDQ weist eine sehr gute Reliabilität und Validität bei der Bewertung der HRQL bei Erwachsenen mit NASH auf (209, 220). Er wurde in einer großen Kohorte von NASH-Patienten mit fortgeschrittener Fibrose validiert und wird seit 2019 in klinischen Studien zur Beurteilung des Therapieerfolges angewendet (220). Mit einem Cronbachs alpha von 0,74 - 0,90 weist der Fragebogen eine gute bis exzellente innere Konsistenz der einzelnen Domänen auf (208). Ergebnisse können Punktzahlen zwischen 1 und 7 annehmen, wobei ein niedrigerer Punktwert mit einer schlechteren HRQL einhergeht (214).

Der CLDQ-NAFLD kann in der Auswertung zwischen Patienten mit einer Adipositas, DM2 oder dem metabolischen Syndrom unterscheiden. Die CLDQ-NAFLD Gesamtpunktzahl ist bei NAFLD-Patienten, welche zusätzlich adipös sind oder an einem DM leiden signifikant niedriger als bei Patienten ohne Adipositas und DM (221). Insbesondere die systemischen Symptome, sowie die Aktivitätsdomänen sind

durch diese Komorbiditäten beeinträchtigt (222). Eine multizentrische Querschnittsstudie in China führte ebenso den signifikanten Zusammenhang von soziodemografischen und klinischen Komorbiditäten mit einer erniedrigter CLDQ-Gesamtpunktzahl bei NAFLD-Patienten auf (223)

Das PRO, sowie die CLDQ-Gesamtpunktzahl ist bei Patienten mit einer NASH mit fortgeschrittener Fibrose geringer (211). Eine Verbesserung des PRO wird bei Regression der Leberfibrose erreicht (224). Es gibt allerdings wenige Daten dazu, ob und wie der CLDQ zwischen Patienten mit oder ohne einer zirrhotischen Leber unterscheiden kann (15).

In einer Studie, an einem europäischen NAFLD-Patienten-Kollektiv von Huber et al. betrug, die mittlere CLDQ-Gesamtpunktzahl $5,0 \pm 1,2$. Die niedrigste Punktezahl wurde in der Kategorie „Müdigkeit“ ($4,3 \pm 1,6$) und die höchste in der Kategorie „Aktivität“ ($5,4 \pm 1,4$) erzielt. Die Lebensqualität von Frauen scheint im Vergleich zu Männern stärker von einer NAFLD beeinflusst zu sein. Es treten signifikant niedrigere CLDQ-Werte auf ($4,6 \pm 1,3$ vs. $5,3 \pm 1,1$; $p < 0,001$). Auch ein histologisch festgestellter erhöhter Steatosegrad (1 vs. 3) der Leber sowie ein höheres Maß an lobulärer Inflammation (0 vs. 3) bedingen niedrigere CLDQ-Werte (Steatose: $5,3 \pm 1,1$ vs. $4,5 \pm 1,4$, $p < 0,01$; Inflammation: $5,3 \pm 1,2$ vs. $3,9 \pm 1,8$, $p < 0,001$) (9).

Yamamura et al. untersuchten den Zusammenhang der verschiedenen Domänen des CLDQs und dem Grad der Leberfibrose. Sie fanden bei NAFLD-Patienten mit einer fortgeschrittenen Leberfibrose im Vergleich mit Patienten mit normaler bis leichter Leberfibrose signifikant niedrigere Werte in der Aktivitätskategorie. Eine solche Korrelation zeigte sich in keiner weiteren Domäne des CLDQ (222).

Die Betrachtung der Lebensqualität bei Patienten mit einer NAFLD und / oder NASH ist neben der offensichtlichen Belastung der Lebererkrankung für die Patienten von ökologischer Relevanz. Patienten mit geringer HRQL sind verantwortlich für steigende Gesundheitskosten und erhöhte Ressourcennutzung in der Gesellschaft. Dieser Zusammenhang ist mit einer gesteigerten Ermüdbarkeit und Müdigkeit, welche in einer Abnahme der physischen Funktionalität enden, zu erklären (118, 119).

2.7 Schlafqualität bei Patienten mit einer NAFLD / NASH

Ein unzureichender Schlaf und Schlafstörungen gehören zu den häufigsten medizinischen Beschwerden in der modernen Gesellschaft (225). Sie stehen im Zusammenhang mit Erkrankungen wie Adipositas, DM, Hypertonie, CVD und Dyslipidämie (226-228). Ein unzureichender Schlaf erhöht nicht nur die Prävalenz der genannten Erkrankungen, sondern konnte auch in einer systematischen Übersicht und einer Metaanalyse über 23 Studien positiv mit einem erhöhtem Risiko der Gesamtmortalität assoziiert werden (229).

Patienten, welche an einer NAFLD erkrankt sind, leiden unter einer Vielzahl von unspezifischen Symptomen. Zu diesen zählen auch Veränderungen des Schlafverhaltens (230). Die Relevanz von Schlaf und Schlafmustern auf den Beginn, die Entwicklung oder den Verlauf der NAFLD ist dennoch derzeit nicht vollständig verstanden. In Tierversuchen ist die für die Steatose ursächliche TG-Akkumulation in der Leber mit dem Schlaf-Wach-Rhythmus korreliert. Auch wenn dieser Effekt im Menschen noch nicht nachgewiesen werden konnte, ist dieser Zusammenhang in Betracht zu ziehen (231). Bos et al., welche an einer Niederländischen Populationskohorte den Effekt von Schlafdauer und -qualität auf die Lipidkonzentrationen im Serum und der Leber untersuchten, konnten allerdings nach Adjustierung des BMI und einer Schlafapnoe keine relevante Assoziation zwischen diesen Parametern finden (232).

Bernsmeier et al. untersuchten in ihrer Studie den Zusammenhang zwischen einer NAFLD und Schlafcharakteristiken, Tagesmüdigkeit und Nahrungsaufnahme. Patienten mit einer NAFLD brauchten längere Zeit, um einzuschlafen (26,9 vs. 9,8 min, $p = 0.0176$), schliefen weniger (6,3 vs. 7,2h, $p = 0.0149$) und hatten eine schlechtere Schlafqualität (Pittsburgh-Sleep-Quality-Index 8,2 vs. 4,7 $p = 0.0074$). Tagesmüdigkeit korrelierte in NAFLD-Patienten, unabhängig mit dem Vorhandensein einer Zirrhose, mit den Leberenzymen ALT [$r = 0.44$, $p = 0.0029$], AST [$r = 0.46$, $p = 0.0017$] und einer IR. Bei bereits vorhandener Fibrose korreliert die Tagesmüdigkeit mit dem Grad der Fibrose. (231).

Marin-Alejandre et al. kommen in Ihrer Studie im Vergleich eines NAFLD-Kollektivs zu einer gesunden Kontrollgruppe zu dem Ergebnis, dass das NAFLD-Kollektiv häufiger Schlafstörungen und eine signifikant geringere Schlafqualität aufweist. Die Schlafeffizienz ist in der NAFLD-Gruppe im Vergleich mit der Kontrollgruppe

signifikant niedriger ($p= 0,028$). Wohingegen die Schlafdauer nicht signifikant mit der NAFLD assoziiert (233). Eine gemeindebasierte Längsschnitt-Kohorten-Studie von Miyake et al. zeigt, dass eine kurze Schlafdauer das Risiko an einer NAFLD zu erkranken in männlichen, nicht aber in weiblichen Probanden sinkt (234). Imaizumi et al. konnten in einer Querschnittstudie eine verkürzte Schlafdauer hingegen nur bei weiblichen Probanden in Verbindung mit einer NAFLD bringen (235). Eine Studie zur Schlafqualität von Kim et al. aus dem Jahr 2013 ermittelte, dass sowohl eine schlechte Schlafqualität als auch eine verkürzte Schlafdauer in beiden Geschlechtern signifikant mit einer NAFLD assoziiert ist (236). Eine neuere Studie von Kim et al. aus dem Jahr 2019, an einem koranischem Patientenkollektiv gibt allerdings Hinweise auf den Zusammenhang einer verlängerten Schlafdauer und dem Anstieg von NAFLD-Scores (237). In einer Taiwanischen Population war eine schlechte Schlafqualität, nicht aber eine verkürzte Schlafdauer mit einem niedrigeren Risiko von sowohl moderaten bis fortgeschrittenen als auch einer milden NAFLD in männlichen Probanden assoziiert. Die Assoziation von Schlafqualität und -dauer war in dem weiblichen Kollektiv nicht signifikant (238). Abgesehen von der Assoziation einer Progredienz der NAFLD mit veränderten Schlafrythmen konnten Cao et al. in einer chinesischen NAFLD-Population eine positive Korrelation zwischen einer verkürzten Schlafdauer, einer schlechten Schlafqualität und dem gesteigerten Risiko eine erhöhte arterielle Steifigkeit zu entwickeln, finden (239).

Die Schlafqualität und -dauer wird anhand des Pittsburgh-Sleep-Quality-Index (PSQI)- Fragebogen erfasst. Der PSQI ist ein subjektiver Fragebogen zur Beurteilung von Schlafqualität und -störungen über einen Zeitraum von einem Monat. Die Items des Fragebogens spiegeln Probleme in der Schlafdauer, der gewöhnlichen Schlafeffizienz, Schlafstörungen, subjektive Schlafqualität, Schlaflatenz, sowie die Verwendung von Schlafmedikamenten und Funktionsstörungen am Tag wieder. Jedes Item kann einen Wert von 0 bis 3 annehmen. Der kalkulierte Gesamtwert liegt, bei diesem Vorgehen, zwischen 0 und 21. Ein höherer Wert geht mit einer schlechteren Schlafqualität einher. Um zwischen einem guten bzw. schlechten Schlafverhalten zu unterscheiden, hat ein Gesamtwert von >5 eine Sensitivität von 89,6% und eine Spezifität von 86,5% (240).

Takahasi et al. untersuchten in einer Studie aus 4828 NAFLD-Patienten den Zusammenhang zwischen Schlafqualität, gemessen an dem PSQI, und dem Vorhandensein einer NAFLD Erkrankung: Der Gebrauch von Schlafmitteln zeigte

sich in Nicht- NALFD- Patienten geringer als in NAFLD- Patienten. Nach Adjustierung des BMI konnte in Männern ebenfalls eine längere Schlaflatenz und in Frauen eine Tagesmüdigkeit mit der NAFLD in Verbindung gebracht werden (241).

2.8 Fragestellung

Der LiMax-Test ist ein neues, nicht-invasives Instrument zur Diagnostik einer NAFLD. Wie oben beschrieben leiden Patienten mit einer NAFLD beziehungsweise einer NASH nicht nur an den direkten körperlichen Folgen ihrer Erkrankung, sondern auch an einer Einschränkung in ihrer Lebens- und Schlafqualität. In der vorliegenden Studie soll untersucht werden, inwieweit allein anhand des LiMax-Wertes Vorhersagen über die Lebens- und Schlafqualität von betroffenen Patienten getroffen werden können. Eventuell gefundene Zusammenhänge können genutzt werden, um Patienten neben der Mitteilung ihres LiMax-Wertes, als Aussagewert über Ihre Leberfunktion, und der damit zusammenhängenden Krankheitsfolgen auch darüber aufzuklären, welche lebensnahen Konsequenzen der entsprechende Wert für sie haben kann.

Der vorliegenden Arbeit liegen entsprechend folgende explorative Fragestellungen zu Grunde:

- 1) Gibt es einen Zusammenhang zwischen den LiMax-Werten und der Lebensqualität, gemessen mit dem CLDQ?
- 2) Gibt es einen Zusammenhang zwischen den LiMax-Werten und der Schlafqualität, gemessen mit dem PSQI?

Da der LiMax-Test als nicht-invasives und schmerzfreies Verfahren gegenüber der invasiven Leberbiopsie im Sinne des Patienten zu bevorzugen ist, sollen auch Aussagen darüber getroffen werden, inwiefern die Vorhersagekraft des LiMax-Tests die der Ergebnisse der Leberbiopsie übersteigt. Die Aussagekraft des Fibrosegrades wird der des LiMax-Tests in einer weiteren explorativen Fragestellung gegenübergestellt:

- 3) Ist der Zusammenhang zwischen den LiMax-Werten und der Lebens- und Schlafqualität, gemessen mit dem CLDQ und dem PSQI, größer als der Zusammenhang zwischen den durch eine Leberbiopsie festgestellten Fibrosegraden und der Lebens- und Schlafqualität?

3 Methodik

Im Folgenden Kapitel wird auf die Methodik, im Rahmen der vorliegenden Studie, eingegangen.

3.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

3.1.1 Ethikkommission

Die durchgeführte Studie wurde von der örtlichen Ethikkommission genehmigt. Jeder Patient wurde vor der Durchführung des LiMax-Testes in sowohl schriftlicher als auch mündlicher Weise über den Sinn und Zweck, als auch den detaillierten Studienablauf informiert. Es wurde ausreichend Bedenkzeit eingeplant. Es bestand jederzeit die Möglichkeit die Einwilligung zu widerrufen.

3.1.2 Einschlusskriterien

Es wurden eine Vielzahl der Patienten, die mit dem Verdacht auf eine NAFLD oder NASH, im Untersuchungszeitraum zwischen Mai 2019 und - März 2021, für eine laparoskopische Leberbiopsie in der Universitätsmedizin der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz geplant waren in die Studie eingeschlossen. Zusätzlich mussten bei den Patienten die formalen Kriterien, wie im Kapitel 2.1.1 beschrieben, einer NAFLD erfüllt sein und ein Vorliegen anderer steatotischer Grunderkrankungen oder Faktoren laborchemisch und anamnestisch weitgehend ausgeschlossen werden.

3.1.3 Ausschlusskriterien

Patienten, bei welchen sich die NAFLD histologisch nicht bestätigt, oder einer anderen Genese zuordbar ist, werden von der Studie ausgeschlossen.

3.1.4 Zeitlicher Ablauf

Patienten, welche in der Leberambulanz der Universitätsmedizin Mainz mit dem Verdacht auf eine NASH oder NAFLD vorstellig wurden, werden von den Studienleitern für die Studie aufgeklärt. Willigt der Patient ein, erfolgt bei der Wiedervorstellung des Patienten zusätzlich zur geplanten Leberbiopsie am gleichen Tag die Zuteilung der Questionnaires (NASH- Check, CLDQ- NAFLD, Pittsburgh-Sleep-Quality-Index) durch die Doktoranten. Des Weiteren erfolgt eine erneute Erläuterung des genauen Ablaufs des LiMax-Testes sowie die Klärung offener Fragen. Der Patient hat jederzeit die Möglichkeit seine Einwilligung an der Studie zu widerrufen.

Am Folgemorgen der Biopsie wird eine Blutentnahme, vor der ersten Nahrungsaufnahme des Patienten, zur Bestimmung folgender Laborparametern durchgeführt:

Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Bilirubin, Gesamt-Eiweiß, Albumin, CRP, Quick, INR, Thrombozyten, ALT, AST, GGT, Gesamtcholesterin, HDL, LDL, Triglyzeride, Glucose, HbA1c, Insulin, C-Protein, IL-6, IL-8.

Im Anschluss erfolgt die 60-minütige Evaluierung der Leberfunktion mittels des ¹³C-Methacetin-Atemtests (LiMax-Test). Die zuvor vom Patienten ausgefüllten Fragebögen werden eingesammelt.

3.2 Leberfunktionstestung mittels 13C-Methacetin-Atemtest

3.2.1 Durchführung des LiMax-Tests in der Studie

Bedingung zur Durchführung des LiMax-Atemtests ist eine mindestens 3-6-stündige Nahrungs-, Flüssigkeits-, und Nikotinkarenz. Eine Testung um 8 Uhr morgens ist bei der Durchführung vorzuziehen, damit diese Karenzzeiten den Patienten nicht belasten. Die Messung erfolgte in Rückenlage mit einer leichten Oberkörperhochlagerung. Auf diese Weise kann eine stabile und ruhige Kreislaufsituation gewährleistet werden. Um die Messergebnisse durch mögliches entweichen der Ausatemluft nicht zu verfälschen, werden die Patienten gebeten sich während der Messung möglichst ruhig zu verhalten (242). Vor Durchführung der Testung, wird ein venöser Zugang (18GA, 20GA) in die Cubitalvene gelegt, um zum einem das Nüchternblut zu entnehmen und zum anderen den zu gebenden Substanzen einen schnellen systemischen Zugang zu ermöglichen.

Benötigte Testutensilien:

- 1-2x 13C Methacetinampulle (Hersteller: Euriso-top, Saint- Aubin, Cedex, Frankreich)
- 1x 20ml Natrium-Chlorid Lösung (NaCl) (0,9%)
- 1x Perfusorspritze
- 1x 20 ml Spritze
- 1x Dreiwegehahn
- 1x CPAP- Maske

Nachdem das Limax-Testgerät eingeschaltet ist, werden die benötigten Patientenparameter inklusive des Patientengewicht und -größe, das Geburtsdatum und das Geschlecht in das Programm dokumentiert.

Als nächstes wird dem Patienten eine speziell vorgefertigte CPAP-Maske möglichst eng auf das Gesicht angebracht. Durch das enge Anliegen der Maske wird seitliches Entweichen der Expirationsluft verhindert. Die Maske besteht aus einem Expirationsventil sowie einem Kunststoffrohr, welches als kurzfristiger Ausatemluftspeicher dient. Diese Vorrichtung wird mit dem LiMax-Gerät verbunden.

Nach dem Starten der LiMAX-Testung werden in den ersten 10 Minuten die Basalwerte ermittelt, welche jeweils den Anteil des natürlichen ^{13}C im abgeatmeten Gesamtkohlendioxid des Patienten berücksichtigen. Das LiMax-Gerät errechnet auf Grundlage des aktuellen Körpergewichtes, der Körpergröße, sowie dem Geschlecht die später zu injizierende Menge an Methacetinlösung. Diese Menge wird während der Basalwert-Ermittlung in die Perfusorspritze aufgezogen. Ebenso wird eine 20 ml NaCl-Spritze aufgezogen. Beide Spritzen können nun an den Dreiwegehahn mit Heidelberger-Verlängerung angebracht werden und mit dem intravenösen Zugang verbunden werden.

Wenn die sogenannte Baseline aus den Basalwerten ermittelt wurde, zeigt das LiMax-Gerät an, dass die Methacetin-Injektion gestartet werden kann. Diese muss idealerweise innerhalb von 30 Sekunden erfolgen, um ein gleichmäßiges Anfluten der Lösung an die Leber zu gewährleisten. Um den Restanteil des Methacetins, sowohl in der Kanüle als auch in den Armvenen der Injektionsseite des Patienten so gering wie möglich zu halten, wird sofort mit 20ml NaCl nachgespült. Innerhalb der nun folgenden maximal 60 Minuten wird von dem Gerät in bestimmten Abständen Atemgasproben aus der Masken-Verlängerung entnommen, analysiert und graphisch dargestellt.

3.3 Chronic Liver Disease Questionnaire-NAFLD (CLDQ-NAFLD)

Um die Lebensqualität zu ermitteln, wird der „Chronic Liver Disease Questionnaire Non-Alcoholic Fatty Liver Disease“ (CLDQ-NAFLD) –Fragebogen in der vorliegende Studie eingesetzt. Dieser leberbezogene Fragebogen zur Beurteilung der Lebensqualität bei Patienten mit einer Leberfunktionseinschränkung wurde 1999 von Younoissi et.al. entwickelt und validiert (219). Younoissi et al. nahmen im Jahr 2016

eine Anpassung des Fragebogens zur Erhebung der Lebensqualität bei Patienten mit einer NAFLD vor. Der CLDQ-NAFLD stellt den aktuellen Standard zur Ermittlung der HRQL bei Patienten mit NAFLD dar (220). Der CLDQ-NAFLD besteht aus 36 Fragen, welche in insgesamt 6 Domänen aufgeteilt werden können. Diese sind gegliedert in: abdominelle Symptome, Aktivität, emotionale Funktionen, Müdigkeit, systemische Symptome und Sorgen (208). Jede der Fragen wird mit einer Skala von 1 (immer/ die ganze Zeit) bis 7 (nie) beantwortet und bezieht sich auf die klinischen Symptome der letzten zwei Wochen (9). Ein geringerer Punktwert geht mit einer höheren Beeinträchtigung einher (219, 243). Patienten mit einem niedrigeren Gesamtergebnis des CLDQ erfahren tendenziell eine insgesamt höhere Symptomlast bei erhöhter Krankheitsaktivität der NASH (209).

3.4 Pittsburgh Schlafqualitätsindex (PSQI)

Der PSQI ist ein international etablierter Fragebogen zur Erfassung der Schlafqualität. Dieser Fragebogen fand ebenfalls in der vorliegenden Studie Anwendung. Er ist derzeit das einzige standardisierte klinische Instrument, welches eine breite Palette von Indikationen für die Schlafqualität abdeckt (244). Dieser erfragt verschiedene Schlafqualitäten, wie die Schlafdauer, –effektivität und/oder Schlafstörungen, Schlafunterbrechungen, die Einnahme von Schlafmedikation, die subjektiv empfundene Schlafqualität und die Tagesmüdigkeit. Die Schlafdauer wurde in drei Gruppen eingeteilt: kurz (<6 h/Tag), normal (6-8 h/Tag) und lang (> 8 h/Tag). Zusätzlich wird der Raucherstatus bei Rauchern nach Dauer des Nikotinabusus und aktuellem Raucherstatus qualifiziert (mindestens 20 Zigaretten pro Monat für mindestens sechs Monate). Neben dem Raucherstatus fließt das Bewegungsprofil des Patienten in die Auswertung ein. Beispielsweise ist regelmäßige Bewegung definiert als intensives Training von mindestens dreimal pro Woche für mehr als 20 Minuten. Der PSQI besteht aus insgesamt 18 Fragen welche 7 Komponenten zugeordnet werden. Diese sind wiederum in einen Wertebereich von 0 bis 3 eingeteilt. Um die gesamte Schlafqualität zu bewerten, wird die Summe der Komponenten gebildet. Diese kann einen Wert zwischen 0 und 21 annehmen. Ein höherer Punktwert geht mit einer schlechteren Schlafqualität einher. Die Fragen beziehen sich auf das Schlafverhalten in einem Zeitraum von einem Monat (233, 240).

3.5 Statistische Auswertung

Die Datenerhebung erfolgte prospektiv. Die Erkenntnisse und Auswertungen der Daten wurden zusammengefasst und mit Tabellen und Grafiken dargestellt. Es wurde folgende Computersoftware verwendet:

- Microsoft Word (Version 2106) für die Textverarbeitung und Erstellung von Tabellen
- Microsoft Excel (Version 2106) für Tabellen und Grafiken
- SPSS- Statistics 27 (IBM) für die statistische Auswertung und Erstellung von Grafiken

Die Daten werden zunächst deskriptiv ausgewertet. Die Werte der Tabellen und Grafiken sind als Mittelwert (\pm Standardabweichung (SD)) oder als Median dargestellt. Die Korrelationsanalysen erfolgten nach Spearman. Ein $p < 0,05$ wird als signifikant angesehen. Für die Gruppenvergleiche wurde die Patientenkohorte anhand des Medians von 323 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ unterteilt. Der Mittelwertvergleich erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test zweier unabhängigen Stichproben. Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte anhand des Shapiro-Wilk-Test, die Verbildlichung anhand eines Histogramms. Um die interne Konsistenz der Fragebögen CLDQ und PSQI in unsere Studie zu bestimmen, wurde der Cronbachs Alpha berechnet. Die Auswertung der Daten erfolgte in Absprache mit dem Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten-Charakteristika

Es wurden in einem Zeitraum vom 05/19 - 03/21 48 Patienten in die Studie eingeschlossen. 3 Messungen konnten aus verschiedenen Gründen nicht abgeschlossen werden. Bei einem Patienten kam es aufgrund eines Paravasats zu einer Thrombophlebitis mit darauffolgender notwendiger ärztlicher Behandlung. Eine Messung wurde, bei kurzfristiger Rückziehung der Einverständniserklärung des Patienten unterbrochen. Eine Messung konnte bei technischen Problemen nicht durchgeführt werden. 3 Patienten wurden aufgrund der Histologie ausgeschlossen. 42 Patienten konnten in der Auswertung berücksichtigt werden. Davon waren 24 (57,1%) Patienten männlich und 18 (42,9%) Patienten weiblich. Das mittlere Alter des Gesamtkollektivs lag bei $56 \pm 10,98$ Jahren. Der jüngste Proband war 27 Jahre und der älteste 75 Jahre alt. In Stichprobe weist ein Patient keine Fibrose (Grad =0), 7 Patienten eine leichte Fibrose (Grad=1), 14 Patienten eine mittlere Fibrose (Grad=2), 11 Patienten eine starke Fibrose und 9 Patienten eine Leberzirrhose (Grad= 4) auf.

4.1.1 Komorbiditäten

Alle Patienten sind übergewichtig mit einem durchschnittlichen BMI von $34,23 \pm 5,41$. Es erfüllen 33 (78,6%) der Patienten die Kriterien eines metabolischen Syndroms. 26 (61,9%) der Patienten leiden unter einem DM2 und 33 (78,6%) Patienten werden aufgrund einer arteriellen Hypertonie behandelt.

Parameter	N = 42
Mittleres Alter (Jahre) (\pm SD)	56 (\pm 10,98)
Geschlecht (%)	
Männlich	24 (57,1%)
Weiblich	18 (42,9%)
Komorbiditäten	
BMI (\pm SD)	34,24 (\pm 5,41)
Metabolisches Syndrom (%)	33 (78,6%)
- erhöhter Taillenumfang (>80cm bei Frauen; >94cm bei Männern) (%)	41 (97,6%)
- Triglyceride >150mg/dl (%)	23 (54,76 %)
	29 (69,05 %)

Ergebnisse

- HDL <50mg/dl bei Frauen und <40mg/dl bei Männern (%)	33 (78,6%)
- Hypertonie (%)	26 (61,9%)
- Diabetes (%)	
LiMax Wert (±SD)	315 (±106,96)
CLDQ (±SD)	5,1 (±1,18)
Abdominelle Symptome	5,69 (± 1,26)
Müdigkeit	4,41 (± 1,57)
Systemische Symptome	5,42 (±1,11)
Aktivität	5,54 (± 1,17)
Emotionale Funktionen	5,14 (± 1,48)
Sorgen	4,68 (± 1,85)
PSQI (±SD)	7,51 (± 4,087)
Laborwerte	
ALT (±SD)	57,76 (±23)
Cholesterin (±SD)	193,26 (±59)
HDL (±SD)	40,68 (±15,22)
LDL (±SD)	115,33 (±49,79)
Hba1c (±SD)	6,66 (±1,35)
Laborscores	
APRI (%)	
0	10 (23,8%)
1	24 (57,1%)
2	6 (14,3%)
3	2 (4,8%)
NFS Score (%)	
0	11 (26,2%)
1	19 (45,2%)
2	12 (28,6%)
Fib-4 (%)	
0	10 (23,8%)
1	23 (54,8%)
2	9 (21,4%)
Leberbiopsie	
NAS	
1	3 (7,1%)
2	2 (4,8%)
3	3 (7,1%)
4	18 (42,9%)
5	11 (26,2%)

Ergebnisse

S	6	4 (9,5%)
	0	1 (2,4%)
	1	15 (35,7%)
	2	22 (52,4%)
	3	4 (9,5 %)
A	0	4 (9,5%)
	1	4 (9,5%)
	2	18 (42,9%)
	3	14 (33,3%)
	4	2 (4,8%)
F	0	1 (2,4%)
	1	7 (16,7%)
	2	14 (33,3%)
	3	11 (26,2%)
	4	9 (21,4%)

Tabelle 1: Charakteristika der Studienpopulation im Gesamtkollektiv

4.1.2 LiMax Werte

Der durchschnittliche LiMax- Wert betrug bei einer SD von $\pm 106,96 \mu\text{g/h/kg}$, $315 \mu\text{g/h/kg}$. Der Median liegt bei $323 \mu\text{g/h/kg}$. Der niedrigste Wert betrug $110 \mu\text{g/h/kg}$ und der höchste $541 \mu\text{g/h/kg}$.

Tests auf Normalverteilung

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Signifikanz	Statistik	df	Signifikanz
LiMax	,108	42	,200*	,981	42	,707

*. Dies ist eine untere Grenze der echten Signifikanz.

a. Signifikanzkorrektur nach Lilliefors

Tabelle 2: Test auf Normalverteilung der LiMax-Messwerte

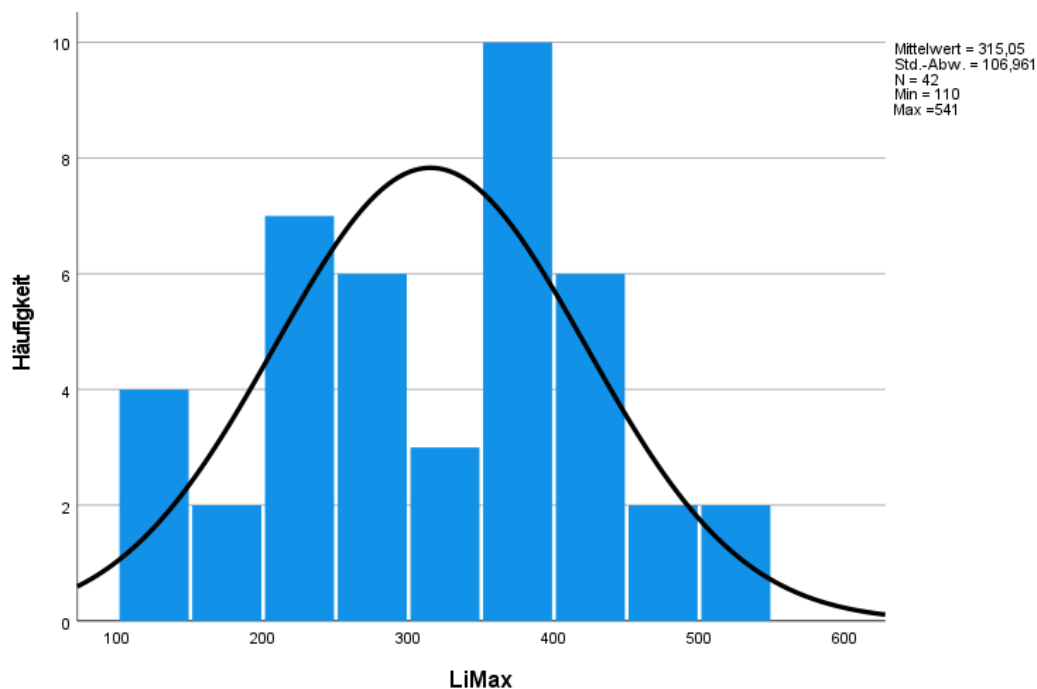


Abbildung 5: Histogramm zum Test auf Normalverteilung der gemessenen LiMax- Werte

Die Werte des LiMax-Testes sind gemäß dem Shapiro-Wilk-Test normalverteilt, $p > 0.05$.

4.1.3 CLDQ und Subdomänen

Im untersuchten Patientenkollektiv betrug der Mittlere CLDQ-Gesamtscore reduzierte Werte von $5,09 \pm 1,26$. Die Werte der einzelnen Subdomänen sind der Tabelle zu entnehmen.

	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
Abdominelle Symptome	2,00	7,00	5,6912	1,26335
Müdigkeit	1,40	6,80	4,4126	1,57339
Systemische Symptome	2,60	7,00	5,4363	1,11103
Aktivität	2,00	7,00	5,5447	1,17964
Emotionale Funktionen	1,75	7,00	5,1473	1,48273
Sorgen	1,00	7,00	4,6834	1,85578

Tabelle 3: Mittelwerte und SD der Subdomänen des CLDQ

Die niedrigsten Werte werden in der Subkategorie „Müdigkeit“ mit einem Wert von $4,41 \pm 1,57$, gefolgt von „emotionale Funktionen“ mit dem Wert von $5,14 \pm 1,48$ erreicht. „Abdominelle Symptome“ und „Aktivität“ zeigten die höchsten Werte mit $5,69 \pm 1,26$ und $5,54 \pm 1,17$.

Ergebnisse

	Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho zum LiMax	Signifikanz (2-seitig)
LiMax	1	.
CLDQ	0,179	0,255
Abdominelle Symptome	0,061	0,703
Müdigkeit	0,154	0,329
Systemische Symptome	0,265	0,09
Aktivität	0,432**	0,004
Emotionale Funktionen	0,144	0,362
Sorgen	0,139	0,381

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

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

Tabelle 4: Korrelationsanalyse von LiMax-Werten und dem CLDQ

	<323 µg/h/kg	>323 µg/h/kg	U	Z	Asymptotische Signifikanz (zweiseitig)
CLDQ	4,743842365	5,45320197	146,5	-1,862	0,063
Abdominelle Symptome	5,39846743	5,98412698	166,5	-1,364	0,173
Müdigkeit	4,0729064	4,75238095	162	-1,475	0,140
Systemische Symptome	5,13924466	5,73333333	150	-1,778	0,075
Aktivität	4,94690734	6,14285714	80,5	-3,537	<,001
Emotionale Funktionen	4,81834975	5,47619048	160	-1,523	0,128
Sorgen	4,26206897	5,1047619	160	-1,524	0,127

Tabelle 5: Vergleich der Subdomänen des CLDQ zweier Patientengruppen, aufgeteilt anhand des Medians der LiMax-Testergebnisse.

Die Gruppenvergleiche erfolgen anhand des Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben

In der Korrelationsanalyse von LiMax-Testergebnissen und der Lebensqualität der Patienten, gemessen an dem CLDQ fand sich kein signifikanter Zusammenhang. Es zeigte sich bei einer Korrelation nach Spearman von 0,179 eine zweiseitige Signifikanz von 0,255. In der vorliegenden Studien-Stichprobe fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen den gemessenen LiMax-Werten und der Aktivität, bei einem Korrelationskoeffizienten nach Spearman von 0,432 und einem

Ergebnisse

zweiseitig gemessenen p-Wert auf 0,004 Niveau. Die durchschnittlichen CLDQ-Gesamtscores sowie der Subdomänen, sind bei Patienten mit LiMax- Werten von $< 323 \mu\text{g/h/kg}$ und von Patienten mit LiMax-Werten $> 323 \mu\text{g/h/kg}$ niedriger. Ein Mann-Whitney-U-Test wurde berechnet, um den Unterschied zwischen der Punktezahlen der CLDQ-Subdomänen und den einzelnen LiMax-Gruppen zu überprüfen. Die Differenzen waren, bis auf die der „Aktivität“, nicht signifikant $p > 0,05$. Die Differenz der durchschnittlichen Aktivitätswerte von Patienten mit LiMax-Werten von $< 323 \mu\text{g/h/kg}$ ($M = 4,94$; $SD = 1,199$) und Patienten mit LiMax-Werten $> 323 \mu\text{g/h/kg}$ war hingegen signifikant $U = 80,5$ $Z = -3,537$ $p < 0,001$.

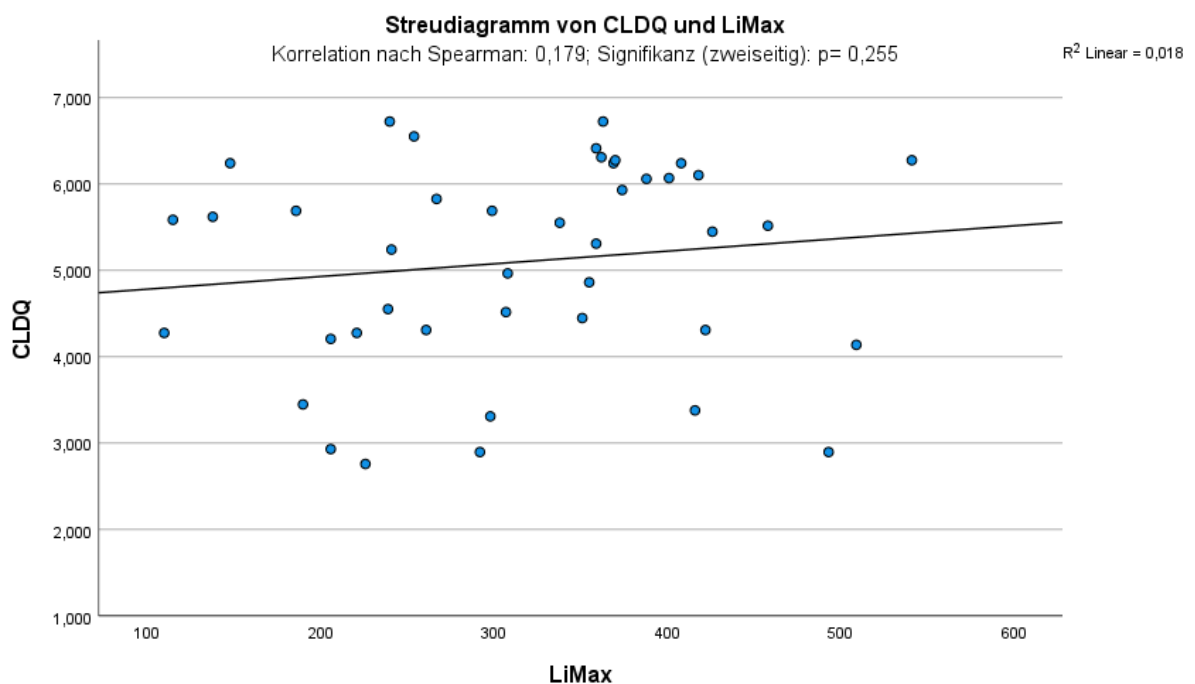


Abbildung 6: Streudiagramm zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen LiMax-Werten und CLDQ

Ergebnisse

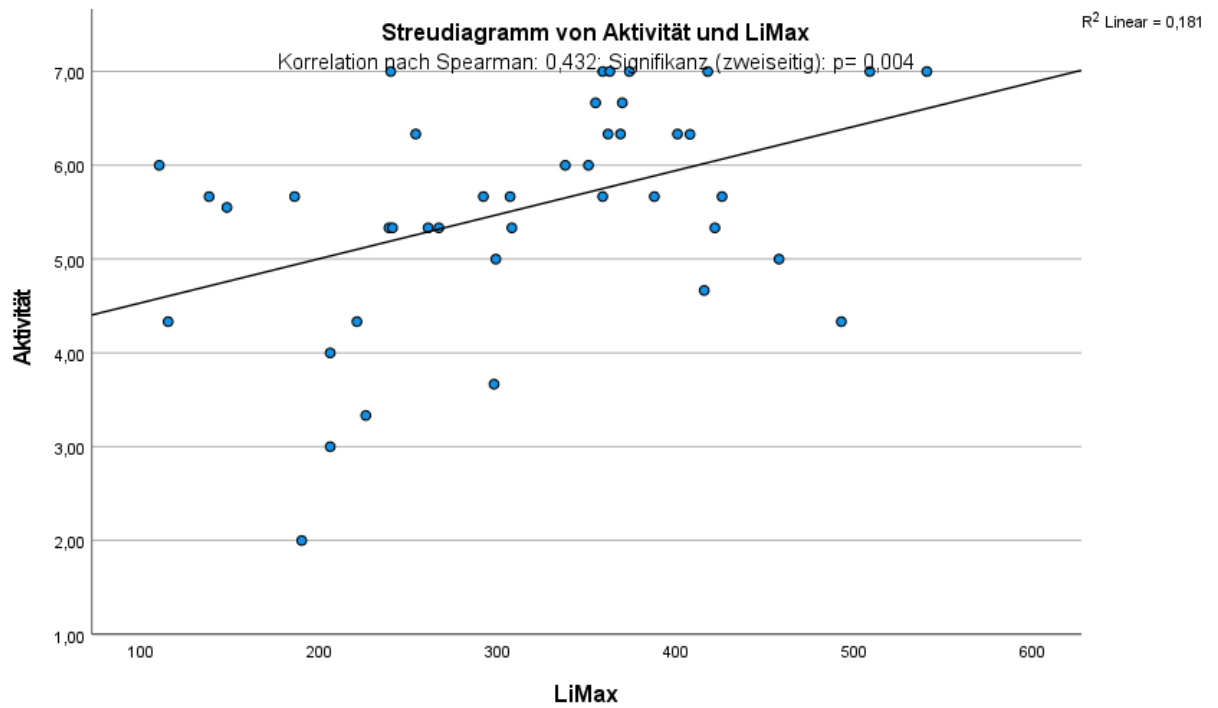


Abbildung 7: Streudiagramm zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen LiMax-Werten und der Aktivität

Die Korrelation von LiMax-Werten und der Aktivität sind im Trend positiv.

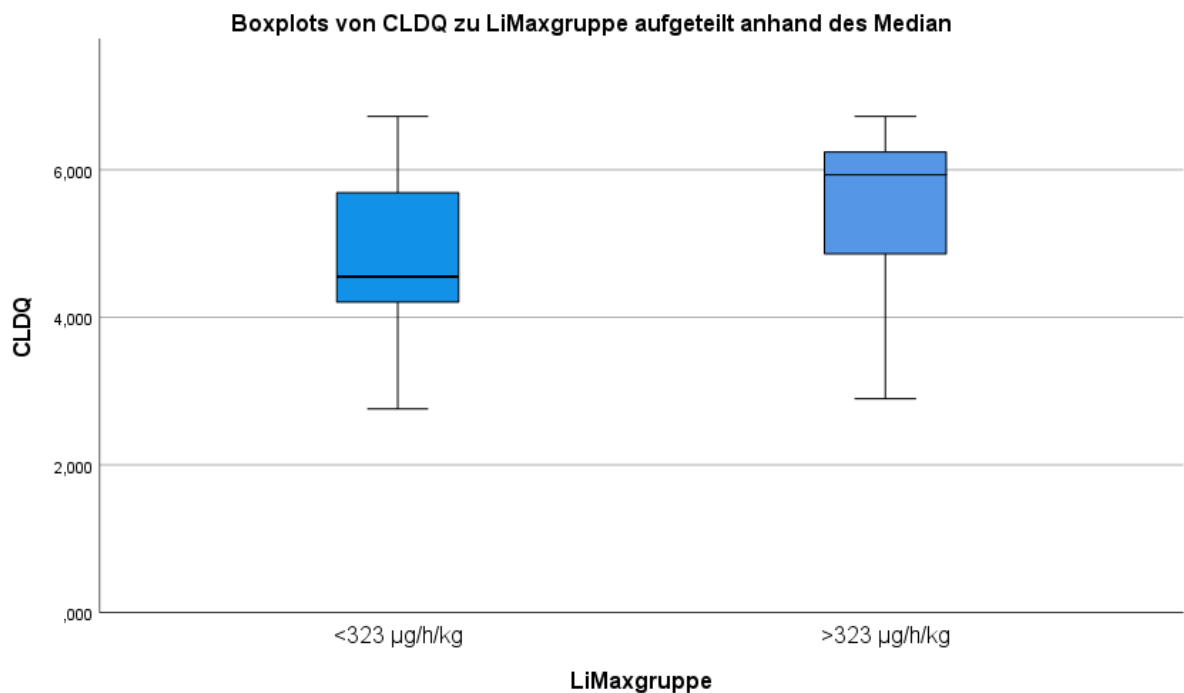


Abbildung 8: Vergleich des CLDQ zweier Patientengruppen, aufgeteilt anhand des Medians der LiMax- Testergebnisse

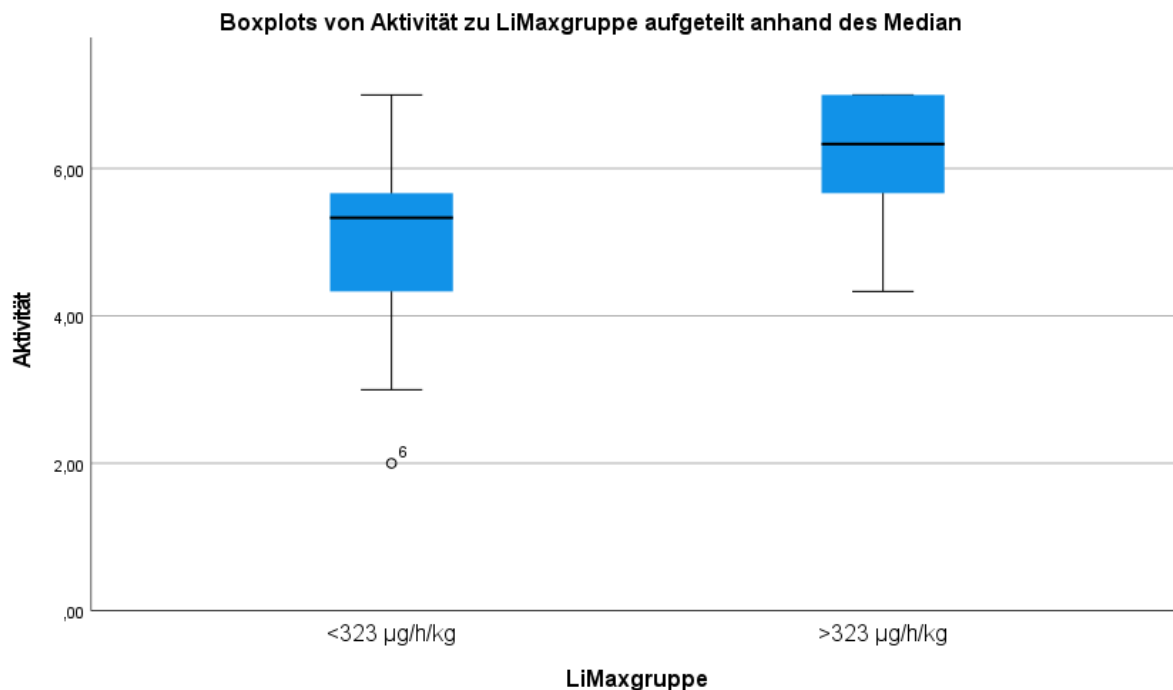


Abbildung 9: Vergleich der Aktivität zweier Patientengruppen, aufgeteilt anhand des Medians der LiMax- Testergebnisse

Innerhalb der Gruppen zeigt sich eine breite Streuung bezüglich der Werte zum CLDQ Gesamtscore sowie der Aktivität.

Reliabilitätsstatistiken

Cronbachs Alpha	Cronbachs Alpha für standardisierte Items	Anzahl der Items
,903	,908	7

Tabelle 6: Cronbachs Alpha des CLDQ

Die interne Konsistenz des CLDQ-NALFD liegt mit einem Cronbachs Alpha von 0,903 in einem exzellenten Bereich.

4.1.4 PSQI

Der PSQI erreichte im Studien-Gesamtkollektiv einen mittleren Wert von 7,51 ± 4,087.

	Korrelationskoeffizient nach Spearman zum LiMax-Test	Signifikanz. (2-seitig)
LiMax	1	
PSQI	-0,033	0,837

Ergebnisse

Schlafqualität	-0,121	0,449
Schlaflatenz	0,058	0,719
Schlafdauer	-0,095	0,553
Schlafeffizienz	-0,112	0,488
Schlafstörung	0,063	0,697
Schlafmittel	-0,064	0,692
Tagesmüdigkeit	-0,048	0,766

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

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

Tabelle 7: Korrelationsanalyse von LiMax-Werten und PSQI

In Korrelationsanalyse von LiMax-Wert und der Schlafqualität, gemessen an dem PSQI zeigte sich weder mit dem Gesamtscore noch mit den Subdomänen ein signifikanter Zusammenhang.

Reliabilitätsstatistiken

Cronbachs Alpha	Cronbachs Alpha für standardisierte Items	Anzahl der Items
,744	,813	8

Tabelle 8: Cronbachs Alpha für den PSQI

Die interne Konsistenz des PSQI in unserer Studie liegt mit einem Cronbachs Alpha von 0,744 in einem akzeptablen Bereich.

4.1.5 Krankheitsstadium der NAFLD

Krankheitsstadium bemessen an der Leberbiopsie	Korrelation zum LiMax- Wert	p (zweiseitig)
Steatose	0,131	0,407
Activity	0,153	0,332
Fibrose	0,485	0,001
NAS	0,079	0,623

Tabelle 9: Korrelation der Leberfunktion, bemessen an dem LiMax-Wert im Zusammenhang mit dem histologischen Krankheitsstadium der NAFLD

Der LiMax-Wert zeigt, bei einer bei Spearman Korrelationskoeffizienten von 0,485 und einer zweiseitigen Signifikanz von $p=0,001$, einen signifikanten Zusammenhang mit dem Fibrosegrad der Leber.

Die Fibrosegrade der Leber sind wie folgt definiert: F0- keine Fibrose, F1- geringe Fibrose, F2- signifikante Fibrose, F3- fortgeschrittene Fibrose, F4- Leberzirrhose. In

Ergebnisse

dem untersuchten Patientenkollektiv findet sich die unten dargestellte Häufigkeitsverteilung der einzelnen Fibrosegrade.

Fibrosegrad	Häufigkeit	Prozentsatz (%)
F0	1	2,4
F1	7	16,7
F2	14	33,3
F3	11	26,2
F4	9	21,4

Tabelle 10: Häufigkeitsverteilung der einzelnen histologisch gesichteten Fibrosegrade

Der LiMax-Wert zeigt in der Korrelationsanalyse zu den einzelnen histologischen Fibrosegraden einen signifikanten Zusammenhang mit dem Fibrosegrad F1 ($r = 0,340$; $p = 0,028$) sowie F4 ($r = 0,335$, $p = 0,030$).

	Korrelation zum LiMax-Wert	p (zweiseitig)
F0	0,251	0,108
F1	0,340	0,028
F2	0,058	0,714
F3	0,125	0,430
F4	0,335	0,030

Tabelle 11: Korrelationsanalyse der einzelnen Fibrosegrade zum LiMax-Wert

4.1.6 Lebens- und Schlafqualität im Zusammenhang mit dem Fibrosegrad

	Korrelation zum Fibrosegrad	p (Zweiseitig)
CLDQ	0,071	0,654
Abdominelle Symptome	0,148	0,348
Müdigkeit	0,133	0,400
Systemische Symptome	0,058	0,713
Aktivität	0,161	0,307
Emotionale Funktionen	0,085	0,593
Sorgen	0,093	0,556
PSQI	0,095	0,553
Schlafqualität	0,172	0,283
Schlaflatenz	0,007	0,967
Schlafdauer	0,125	0,437
Schlafeffizienz	0,231	0,146
Schlafstörung	0,173	0,279

Ergebnisse

Schlafmittel	0,244	0,124
Tagesmüdigkeit	0,172	0,283

Tabelle 12: Korrelation des histologischen Fibrosegrades der Leber im Zusammenhang mit dem CLDQ und des PSQI

In der Stichprobe korreliert der Fibrosegrad der Leber, als relevantester prognostischer Marker bei Patienten mit einer NAFLD, nicht mit der Lebensqualität oder der Schlafqualität.

5 Diskussion

An dieser Stelle werden die Ergebnisse der LiMax-NASH-Studie diskutiert. Im Einzelnen sind dies die Ergebnisse zu den Korrelationen von LiMax-Werten zu Lebensqualität, Schlafqualität und Fibrosegraden sowie die Korrelation von Fibrosegraden und Lebens- und Schlafqualität.

Auf die Stärken und Schwächen, der in dieser Studie verwendeten Methodik, wird im entsprechenden Unterpunkt eingegangen.

5.1 Ergebnis-Diskussion

Eine Aussage, inwiefern die Leberfunktion, die vom Patienten erfahrene Lebensqualität beeinflusst, kann bis zum aktuellen Zeitpunkt nicht gemacht werden.

In dem Patientenkollektiv, der hier durchgeführten Studie, liegt die mittlere Leberfunktion bei $315 \mu\text{g/h/kg} \pm 106,96 \mu\text{g/h/kg}$ und somit am Grenzbereich zu einer normalen Leberfunktion. Der LiMax-Test liefert an dieser Stelle nur richtungsweisende Ergebnisse. Die HRQL spielt in der Beurteilung der Krankheitslast von chronischen Erkrankungen eine wichtige Rolle. In den ermittelten Bereichen der Lebensqualität (CLDQ-Gesamtscore, abdominelle Symptome, Aktivität, emotionale Funktionen, Sorgen, Müdigkeit, systemische Symptome) erreichten die Probanden in der Subkategorie „Müdigkeit“ und „emotionale Funktionen“ die niedrigsten Werte. „Müdigkeit“ ist in NAFLD-Patienten oder in Patienten mit anderen chronischen Lebererkrankungen das am häufigsten beschriebene Symptom. Ebenso sind Depressionen, als ersichtlichste Erkrankung mit Einschränkung auf die emotionalen Funktionen, bei Patienten chronischer Lebererkrankungen oft vertreten (245, 246). Die höchsten Werte wurden in den Bereichen „Abdominelle Symptome“ und „Aktivität“ gefunden. Diese Bereiche der Lebensqualität wurden von den Probanden als weniger belastend wahrgenommen. Dies ist im Anbetracht dessen, dass die NAFLD häufig als asymptomatische Erkrankung beschrieben wird, nachvollziehbar. NAFLD-Patienten, oder Patienten mit anderen chronischen Lebererkrankung besitzen selten der Leber eindeutig zuordenbare Beschwerden (131). Obwohl in den Subdomänen des PSQI, wie die Schlaflatenz, Schlafqualität, Schlafdauer, Schlafstörung, der Gebrauch von Schlafmitteln sowie Tagesmüdigkeit, keine erhöhten Werte aufwiesen, zeigte der Gesamtscore des PSQI einen mittleren Wert von $7,51 \pm 4,087$. Dies deutet auf eine verringerte Schlafqualität in der vorliegenden

NAFLD-Stichprobe hin. Dies spiegeln auch Befunde aus weiteren Studien, welche die Schlafqualität von Patienten chronischer Lebererkrankungen untersuchten, wider (247).

Korrelation von LiMax-Wert und Lebensqualität

In der vorliegenden Arbeit konnte in der Korrelationsanalyse von LiMax-Testergebnissen und dem CLDQ-Gesamtscore kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Jedoch zeigte sich eine signifikante Korrelation ($r=0,432$; $p=0,004$) zwischen LiMax-Testergebnissen und der Aktivität.

Für die Interpretation der Ergebnisse müssen folgende Fakten berücksichtigt werden:

Übergewicht ist ein zu erwartender Faktor, welcher mit einer verringerten Aktivität assoziiert ist (208). In dem Studienkollektiv waren alle Patienten übergewichtig. 35 von 42 Patienten zeigten einen BMI von über 30. Zusätzlich ist es erwiesen, dass körperliche Aktivität weitreichende positive Auswirkung auf die Gesundheit und die metabolische Funktionalität der Leber hat. Regelmäßige körperliche Aktivität erhöht die Widerstandsfähigkeit gegenüber oxidativem Stress, lipogene Enzyme, welche die DNL induzieren, werden herunter reguliert und der Lipidstoffwechsel wird gesteigert (248, 249). Des Weiteren beschreiben eine Vielzahl von Studien die positiven Auswirkungen physischer Aktivität in Bezug auf die NAFLD-Erkrankung. Es gibt eine inverse Beziehung von physischer Aktivität und der Prävalenz der NAFLD. Diese sind unabhängig von Gewichtverlust oder anderen Cofaktoren (250). In unserem NAFLD-Patientenkollektiv ist die physische Aktivität ebenso verringert. Aktivitätswerte des CLDQ erreichen im Mittel reduzierte Werte von $5,5 \pm 1,17$. Interessanterweise ist die Verringerung der physischen Aktivität anhand des LiMax-Testes objektivierbar. Bei niedrigeren Aktivitätswerten wird eine anhand des LiMax-Testes gemessene verringerte Leberfunktion ersichtlich. In dieser Annahme bestärkend, ist der Gruppenvergleich von Patienten mit niedrigerer Leberfunktion von Patienten mit höherer Leberfunktion. Um vergleichbare Gruppengrößen zu erhalten, teilten wir die Stichprobe anhand des Medians der LiMax-Werte auf. Die Gruppen zeigten eine signifikante Differenz der mittleren Aktivitätswerte. Patienten mit einer Leberfunktion über $323 \mu\text{g/h/kg}$ waren körperlich aktiver als Patienten mit einer Leberfunktion unter $323 \mu\text{g/h/kg}$. Die Erhöhung der körperlichen Aktivität kann ein guter Therapieansatz für o. g. Patientengruppe sein. Die derzeitige einzige effektive Therapieoption der NAFLD ist eine Lebensstilmodulation mit einer signifikanten

Gewichtsabnahme und einer Steigerung der körperlichen Aktivität (55, 171, 251, 252). Vielen Patienten gelingt die Umstellung der Lebensumstände jedoch nicht in dem geforderten Maß. Jedoch könnte die Relevanz von physischer Aktivität bei bereits objektivierbarer Abnahme in der Leberfunktion mittels des LiMax-Funktionstest verstärkt hervorgehoben werden und unnötige Kosten sowie Medikamentenverabreichungen bei Patienten, welche unter Nutzen-, Risiko-, Kostenanalyse nicht von neuartigen Therapien profitieren würden, verhindert werden (14). Überdies weisen Studien daraufhin, dass eine Abnahme der physischen Funktionalität mit einem Anstieg der Gesundheitskosten assoziiert ist (118, 119). Die Möglichkeit einer durch den LiMax-Test objektivierbaren Reduzierung der Aktivität ist somit auch von gesundheitsökologischer Relevanz.

Die nicht vorhandene Korrelation des CLDQ- Gesamtscores als auch der anderen Bereiche der Lebensqualität (abdominelle Symptome, emotionale Funktionen, Sorgen, Müdigkeit, systemische Symptome) sind im Hinblick der Funktionsweise des LiMax-Testes nachvollziehbar. Der LiMax-Test fungiert auf dem Abbau von Methacetin, welches in gesunden Hepatozyten von dem Cytochrom P450 1A2 (Cyp1A2) -Enzym verstoffwechselt wird. Dieses Enzym gehört zu dem System der mikrosomalen Monooxygenasen (193). Die Lebensqualität ist ein multimodales, zum Großteil psychisch basierendes Konzept, welches, anderes als die physische Aktivität, auf Ebene von Zellorganellen keine organische Auswirkung zu vollbringen vermag. Demzufolge zeigt sich auch anhand der Gruppenvergleiche der Mittelwerte innerhalb der Subdomänen des CLDQs keine signifikante Differenz. Die Aufteilung der Gruppen anhand der medianen Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test ist dahingehend nicht richtungsweisend.

Korrelation von LiMax-Wert und Schlafqualität

Eine verringerte Schlafdauer und Schlafqualität sind mit einer Vielzahl von metabolischen Risikofaktoren assoziiert. Eine Reihe von Studien deuten darauf hin, dass Schlafmangel und eine verringerte Schlafqualität zu vielen Komplikationen wie beispielsweise DM2, IR, Bluthochdruck und Übergewicht führt (253). Diese stellen alle Risikofaktoren für die Entstehung einer NAFLD dar. Eine verringerte Schlafqualität und Schlafdauer wirken sich zudem auf das Verhalten in Bezug auf die Aktivität aus. Studien konnten zeigen, dass Personen mit reduzierter Schlafqualität und Schlafdauer eine verringerte physische Aktivität aufweisen (254, 255). Diese

wiederrum ist, wie bereits erwähnt ebenso ein unabhängiger Risikofaktor in der Entstehung einer NAFLD. Es ist somit denkbar, dass eine verringerte Schlafqualität sowie Schlafdauer mit einer Reduktion in der Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test assoziiert ist. Anhand der vorliegenden Daten ist jedoch keine signifikante Korrelation von LiMax-Werten und dem PSQI ($r = 0,033$ $p = 0,837$) oder seinen Subdomänen erkennbar. Eine Reduktion der Schlafqualität scheint keinen Zusammenhang mit der durch den LiMax-Test objektivierten Leberfunktion zu haben. Dieses Ergebnis lässt sich im Kontext zu anderen Studien bezüglich der Evaluation einer Beziehung von Schlafqualität und der NAFLD-Erkrankung einordnen. Schlafqualität ist ein sehr subjektives Konstrukt, welche bei fehlender Selbstreflexion zu einer Verminderung der Berichterstattung führen kann. Dies macht die Schlafqualität im Rahmen klinischer Studien schwer objektivierbar. Wie in Kapitel 2.5 aufgeführt kann zwischen den verschiedenen Studien und Patientenkohorten kein linearer replizierbarer Zusammenhang zwischen Schlafqualität und der NAFLD eruiert werden. Zur Ermittlung der definitiven Relevanz von Schlafqualität und Schlafdauer auf die NAFLD-Erkrankung sind weitere Studien notwendig. Wissenschaftliche Fragestellungen könnten zum einen sein, welche Relevanz eine verringerte Schlafqualität auf die Pathogenese der NAFLD hat oder aber wie stark die Abnahme der Schlafqualität mit einer verringerten physischen Aktivität in NAFLD-Patienten korreliert, welche wiederum eine Abnahme in der Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test verursachen kann. Erkenntnisse darüber können wiederum Grundlagen zukünftiger Therapien der NAFLD darstellen.

Korrelation von LiMax-Wert und Fibroestadium

Der LiMax-Test ist ein einzigartiger Test zur Eruiierung der Leberfunktion. Derzeitige Forschung in Bezug auf die Diagnostik einer NAFLD konzentriert sich auf nicht-invasive Maßnahmen zur Differenzierung und Feststellung des Leberfibrosegrades. Der Fibrosegrad hat für den Patienten die größte prognostische Relevanz in Bezug auf die NAFLD-Erkrankung. Dieser ist direkt und exponentiell mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (11, 12). Wie bereits erwähnt konnten verschiedene Studien Hinweise darauf liefern, dass strukturelle Veränderungen im Lebergewebe mit einer Abnahme der Leberfunktion einhergehen (197). Anhand der in dieser Studie erhobenen Daten ist ebenfalls ein signifikanter Zusammenhang zwischen LiMax-Werten und dem histologischem Fibrosegrad ersichtlich ($r = 0,485$, $p = 0,001$). Ein erhöhter Fibrosegrad geht mit einer Abnahme von funktionalem Lebergewebe einher.

Die Verstoffwechslung des im LiMax-Test verwendeten Methacetin erfolgt wiederum ausschließlich in gesunden Hepatozyten, welche das Cyp1A2 Enzym produzieren (193, 194). Nichtsdestotrotz scheint der LiMax-Test nicht geeignet zu sein, eine feine Abstufung innerhalb Fibrosegrade zu verbildlichen (159). Anhand der in dieser Studie erhobenen Daten korreliert der LiMax-Wert lediglich mit dem histologischen Fibrosegrad F1 ($r = 0,340$; $p = 0,028$) sowie F4 ($r = 0,335$, $p = 0,030$). Im Hinblick auf die in dieser Studie erhobenen Befunde bezüglich der Korrelation von physischer Aktivität und Leberfunktion gemessen am LiMax-Test ist auch dieser Zusammenhang nachvollziehbar. Die Leberfunktion ist von mehreren Faktoren abhängig. Sie kann beispielsweise durch physische Aktivität induziert werden oder aber bei morphologischer Veränderung des Leberparenchyms verringert werden. So erscheint es möglich, dass Patienten mit beginnendem fibrotischen Umbau (F1-F2) der Leber und beibehaltener physischer Aktivität eine bessere Leberfunktion besitzen als Patienten, mit gleichem morphologischem Erscheinungsbild der Leber und weniger körperlichen Aktivität. Ein Leberfunktionstest, wie beispielsweise der LiMax-Test ist somit in der Diagnostik der prognostisch sehr relevanten Evaluation des wahren Leberfibrosestadiums kein sinnvolles Tool.

Korrelation von Fibrorestadium und Lebens- bzw. Schlafqualität

Eine Vielzahl von Studien haben den Zusammenhang einer chronischen Lebererkrankung und der Einschränkung in der Lebensqualität untersucht. NAFLD-Patienten erfahren laut einer Studie von Yamamura et al. vor allem in Bereichen der physischen Funktionalität eine Einschränkung in Ihrer Lebensqualität (222). Die Diagnose einer NAFLD-Erkrankung erfolgte über histologischen Nachweis einer intrahepatischen Leberverfettung. Neben der erwähnten prognostischen Relevanz des Grades der Leberfibrose konnte diese als Marker für eine Lebensqualitätseinschränkung gefunden werden (11, 256). Younossi et al. fanden darüber hinaus auch den bidirektionalen Zusammenhang. Bei Verbesserung der Leberfibrose erfahren Patienten mit einer NASH eine Verbesserung ihres PRO (patient reported outcome) (224). Gleiche Korrelation fand sich bei Bewertung der Leberfibrose bei NASH-Patienten anhand nicht-invasiver Tests (257). Es ist des Weiteren zu diskutieren, ob der histologische Fibrosegrad gleiche Erkenntnisse bezüglich der Lebens- und Schlafqualität gibt wie der LiMax-Test.

In der vorliegenden Arbeit konnte in der Korrelationsanalyse von Fibrosegraden, dem CLDQ-Gesamtscore ($r = 0,071$, $p = 0,654$) und seinen Subdomänen kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Auch ein signifikanter Zusammenhang von Fibrosegraden und PSQI ($r = 0,095$, $p = 0,553$) oder seinen Subdomänen ist nicht ermittelbar. Diese Ergebnisse reproduzieren Erkenntnisse von Huber et al. aus einem Patientenkollektiv aus Nord-, Mittel-, und Südeuropa. In der Beeinflussung der Lebensqualität erscheint der Grad der Inflammation sowie ein erhöhtes Körpergewicht von höherer Relevanz als der Grad des histologischen Umbaus des Leberparenchyms (9). Das Vorhandensein von intrahepatischer Inflammation grenzt die NASH von NAFLD ab. Alizai et al. und Portincasa et al. fanden, dass der LiMax-Test dazu in der Lage ist zwischen NASH und „Nicht NASH“ zu unterscheiden (39, 198). Die Annahme, dass der Grad der intrahepatischen Inflammation für die Beeinflussung der HRQL relevanter, als der Fibrosegrad ist, wird in weiteren Studien bestärkt (258). Die intrahepatische Inflammation mündet aufgrund der in Kapitel 2.2 beschriebenen Pathomechanismen in einer metabolischen Inflammation. Metabolische Inflammation ist mit einer Erhöhung von verschiedenen proinflammatorischen Zytokinen assoziiert, welche abermals einen negativen Effekt auf die Stimmung haben und so eine Einschränkung in der HRQL verursachen (259). Der alleinige fibrotische Umbau führt nicht zu einer Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen und vermag deshalb nur im geringeren Maß systemische Auswirkungen auf die Lebensqualität zu verursachen. Die in dieser Studie erhobenen Befunde replizieren somit die Studienergebnisse von Huber et al., welche darauf hinweisen, dass der Grad der Fibrose einen untergeordneten Einfluss auf die HRQL einnimmt.

Es bleibt zu diskutieren, wie der LiMax-Test, im Gegensatz zu der Leberbiopsie Hinweise auf eine eingeschränkte physische Aktivität, als Bestandteil der Lebensqualität gibt.

Die Leberfunktion ist im Gegensatz zum histologischen Umbau des Leberparenchyms ein dynamisches Geschehen. Sie kann wie bereits erläutert durch verschiedene Prozesse induziert sowie reduziert werden. Selbst wenn, die durch intrahepatische Verfettung oder Inflammation bedingte mitochondriale Dysfunktion bei NAFLD- beziehungsweise NASH- Patienten mittelfristig in einer Fibrosierung ersichtlich werden kann, ist es möglich, dass diese vorerst als ultrastrukturelle Veränderungen vorliegen (77), und so eine zunächst nicht histologisch sichtbare

Einschränkung in der Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test verursachen. Der LiMax-Test erscheint deshalb in der Objektivierung der Einschränkung der physischen Aktivität in NAFLD-Patienten sensitiver als die Leberbiopsie allein. Er kann gegenüber der einfachen histologischen Beurteilung des Leberparenchyms oder den serologischen Fibrosemarkern einen Mehrwert an Information geben.

Für die Verifizierung der Relevanz, der durch den LiMax-Test festgestellten Abnahme der Leberfunktion, auf die Objektivierbarkeit einer verringerten physischen Aktivität und dessen Folgen auf eine insgesamt verringerte Lebensqualität sind weiterführende Untersuchungen notwendig. Ein sinnvolles Studiendesign zur Eruiierung dieses Zusammenhangs könnte eine Längsschnittstudie mit Gruppenunterteilung nach der Menge der physischen Aktivität und der im Verlauf beobachteten Lebensqualität in Verbindung mit deren Einschränkung innerhalb der einzelnen Subdomänen über die Zeit liefern.

Selbst, wenn die Relevanz einer objektivierbaren Möglichkeit der Abnahme physischer Aktivität fraglich zu sein scheint, konnte diese Studie wichtige Einblicke hinsichtlich vorhandener Unterschiede von histologischem Erscheinungsbild der Leber und der Funktionalität geben. In der Zusammenschau der Erkenntnisse der gesamten hier vorgelegten Arbeit, wird ebenso die Wichtigkeit einer regelmäßigen physischen Aktivität auf den gesamten Organismus, vor allem aber für den Metabolismus der Leber hervorgehoben. Auch wenn Lebensstilmodifikationen schwierig umsetzbar sind, sind sie meines Erachtens in Bezug auf den Progress der NAFLD der wichtigste und nebenwirkungsärmste Baustein in der Therapie einer Erkrankung, welche ein Viertel der Weltbevölkerung betrifft. Zukünftige Therapiekonzepte zur Behandlung der NAFLD sollten neben, der in Zukunft möglichen Medikamentenverabreichung, Motivationsprogramme und einfach umsetzbare Bewegungsprogramme beinhalten. Da eben diese, das Risiko für die Entwicklung einer signifikanten Fibrose oder Zirrhose verringern und positive Effekte auf die erfahrende Lebensqualität haben (260, 261).

5.2 Stärken und Limitationen der Studie

Der vorliegenden Arbeit sind einige Stärken hinsichtlich der Stichprobe, der Messinstrument und des Designs zuzuschreiben.

Die Teilnehmer wurden im Rahmen einer Vorstellung in der Leberambulanz der Unimedizin Mainz rekrutiert. Auf diese Weise sind alle Krankheitsstadien der NAFLD repräsentiert. 52,4% der Patienten haben eine leichte Leberfibrose (F0-F2) und 47,6% eine höhergradige Leberfibrose (F3) beziehungsweise Leberzirrhose (F4). Zudem lag eine breite Altersspanne zwischen 27 und 75 Jahren vor. Auch die Geschlechterverteilung der Stichprobe ist annähernd ausgeglichen und repräsentiert die allgemeine Prävalenz der NAFLD. 57,1% männliche und 42,9% weibliche Probanden nahmen an der Studie teil. Diese Stichprobenkennwerte sprechen für eine höhere Repräsentativität. Die vorhandene Normalverteilung der LiMax-Messwerte ist ebenfalls als Stärke anzusehen. Die Studie nimmt Bezug auf aktuelle Forschung im Bereich der Hepatologie und trägt zur Evaluierung der Krankheitslast der NAFLD, um so in Zukunft die Therapiewahl zu optimieren, bei. Zur Diskussion der ausgewählten Methodik beziehungsweise zur Prüfung unserer Fragestellung sind folgende Punkte anzubringen:

Die Bemessung der Leberfunktion mittels des LiMax-Testes basiert auf den im Kapitel 2.3.8. beschriebenen Überlegungen. Seit seiner Einführung im Jahre 2009 ist der LiMax-Test intensiv evaluiert worden (193, 194). Der LiMax-Test stellt sich bei Möglichkeit eines Bedside-Testes mit einer einfachen Anwendbarkeit sowie geringer Belastung des Patienten als klinisch gut durchführbarer Test zur Prüfung der Leberfunktion dar. Die Gefahr von Messfehlern bei der Durchführung des LiMax-Testes ist aufgrund der hohen Standardisierung und einfachen Handhabung des LiMax-Gerätes gering. Als weitere Stärke des LiMax-Testes ist, die im Gegensatz zu den in Kapitel 2.3 aufgeführten serologischen Fibrosemarkern, die mögliche Anwendbarkeit in jedem Alter zu nennen (199). Darüber hinaus stellt eine starke Adiposität im Vergleich zu den ebenfalls in 2.3. aufgeführten nicht-invasiven Diagnoseverfahren einer NAFLD oder NASH keine Kontraindikation dar (198). Limitationen dieses Leberfunktionstestes liegt in der fehlenden Möglichkeit der korrekten Evaluation der einzelnen Fibrosegrade (159). Die Diskrepanz zwischen der mittels LiMax-Test gemessenen Leberfunktion und histologischen Umbauprozessen kann zwar anhand ultrastruktureller mitochondrialer Dysfunktion erklärt werden (77),

erlaubt allerdings den zukünftigen Ersatz der Leberbiopsie durch den LiMax-Test nicht, da der Grad der Leberfibrose als relevantester prognostischer Faktor und als Endpunkt in vielen Studien angesehen wird.

Zur Bewertung der HRQL von Patienten mit chronischen Lebererkrankungen ist der CLDQ ein weit verbreitetes, vollständig validiertes krankheitsspezifisches Instrument. Er wurde weltweit in einer Vielzahl von Studien eingesetzt. Um die Krankheitsbelastung der NAFLD besser zu verstehen, wurde der CLDQ im Jahre 2017 von Younossi et al. an Patienten mit einer NAFLD angepasst. Die Cronbachs Alphas von 0,75 – 0,90 weisen auf eine exzellente interne Konsistenz hin. Auch bei dem Einsatz des Fragebogens in der hier untersuchten Stichprobe ist ein Cronbachs Alpha von $>0,9$ ermittelbar und zeigt auch hier eine exzellente interne Konsistenz. Der CLDQ bewertet in jeweiligen Unterabschnitten neben einzelnen Symptomen, auf einer oberflächlichen Ebene, auch soziale und emotionale Faktoren. In seiner Konstruktvalidierung, in Bezug auf bei NAFLD vorhandene Komorbiditäten, zeigte der CLDQ-NAFLD eine gute Erfassung der wichtigsten Beeinträchtigungen. Es lagen deutlich niedrigere Aktivitätswerte bei übergewichtigen Patienten vor sowie niedrigere Werte für Emotionen bei Patienten mit einer Depression. So ermöglicht der CLDQ-NAFLD die Unterscheidung feiner krankheitsspezifischer Aspekte in einem zeitkritischerem, ambulanten Setting (208). Obwohl der CLDQ-NAFLD ein neues Instrument zur Bemessung der HRQL in NAFLD-Patienten ist, ist er zum jetzigen Zeitpunkt das beste Messinstrument zur Ermittlung der Lebensqualität in dieser Patientengruppe.

Der PSQI ist der einzige standardisierte Fragebogen zur Evaluation der Schlafqualität. Er zeigt eine gute Reliabilität und Validität, jedoch eine mäßig positive strukturelle Validität. Auch die innere Konsistenz erreicht auf individueller Ebene nicht das empfohlene Niveau. In dieser Studie kann ein Cronbachs Alpha von 0,755 erreicht werden. Damit erzielt der PSQI nur eine akzeptable interne Konsistenz der einzelnen Subdomänen. Mit Ausnahme der Schlafstörung unterscheiden sich die PSQI-Gesamtwerte und alle Subskalenwerte in einer Vielzahl von nicht-klinischen und klinischen Studien signifikant (244). Limitationen liegen an der fehlenden Validierung des PSQI anhand Patienten mit chronischen Lebererkrankungen. Eine weitere wichtige Einschränkung dieses Fragebogens ist, die sehr subjektive Bewertung des Schlafes, welche zusätzlich bei mangelnder Selbstreflexion an Aussagekraft verliert. Diese Tatsache erschwert, bei Anwendung dieser Methode,

eine zuverlässige Aussage in Bezug auf die Schlafqualität in der vorliegenden Studie. Dennoch erfüllt der PSQI seinen beabsichtigten Nutzen zur groben Erfassung der Schlafqualität und stellt im gegebenen Rahmen ein geeignetes Messinstrument dar.

Die vorliegende Arbeit ist orientiert an einer Vielzahl publizierter Studien im Zusammenhang von Lebensqualitätseinschränkungen und der NAFLD (9, 201, 215, 220, 258) und kann einige Zusammenhänge in diesem Kontext replizieren. Damit leistet sie einen Beitrag zum wachsenden Forschungsbereich der metabolisch assoziierten Fettlebererkrankung mit Implikationen für zukünftige Forschungen, beispielsweise auf der Grundlage im Abschnitt 5.1 genannten Studien.

Neben den genannten Stärken sind Limitationen der Forschungsarbeit zu nennen, die Ansatzpunkte für Verbesserungen in zukünftigen Studien bieten können.

Die für diese Studie erhobene Stichprobe umfasste 42 Personen. Für den Schluss auf eine Erkrankung welche fast 25% der Weltbevölkerung betrifft ist die Größe der Stichprobe nicht ausreichend und somit auch nicht hinreichend repräsentativ. Die im vorherigen Kapiteln getätigten Interpretationen des Zusammenhangs zwischen Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test und der physischen Aktivität kann dennoch anhand einer zweiseitigen Signifikanz von $p = 0,004$ und einer Korrelation nach Spearman von $r = 0,432$ getätigt werden. Eine Einschränkung liegt jedoch in der subjektiven Beurteilung von Lebens- und Schlafqualität, welche beispielsweise durch bisher unbekannte Moderatoren beeinflusst oder bei unterschiedlich stark ausgeprägter Resilienz an Vergleichbarkeit verliert.

Zukünftige Forschung zum Zusammenhang zwischen der mittels LiMax-Tests gemessenen Leberfunktion und Lebensqualität von Patienten mit einer NAFLD sollte, um aussagekräftige Ergebnisse zu erlangen, an einer größeren Stichprobe durchgeführt werden. Wie in dieser Studie gezeigt wurde, sind Interaktionen zwischen der Leberfunktion und der physischen Aktivität, als Kofaktor der Lebensqualität vorhanden. Diese sind bis zum heutigen Zeitpunkt allerdings wenig erforscht. In diesem Sinne sollte meines Erachtens in Zukunft die Verbindung von physischer Aktivität, Lebens- und Schlafqualität sowie der Leberfunktion, gemessen an dem LiMax-Test intensiviert werden. Bisher verdeckte Zusammenhänge können auf diese Weise entdeckt und erklärt werden. So kann in der Patientenbetreuung von NAFLD-Patienten viel mehr auf dessen Bedürfnisse eingegangen werden und die

Verbesserung der HRQL die Wahl einer zukünftigen Therapie maßgeblich beeinflussen. Auch die Diskrepanz zwischen der durch den LiMax-Test gemessene Leberfunktion, dem histologischen Erscheinungsbild der Leber und dessen Zusammenhänge mit der Lebens- bzw. Schlafqualität bietet ein breites Spektrum an wissenschaftlichen Fragestellungen. Insgesamt gilt es, Forschung, die Einblicke über die durch den Patienten erfahrende Einschränkung in der Lebensqualität gibt, zu fördern, da diese unabhängig von der Prognose für den Patienten, meines Erachtens, den relevantesten Faktor im alltäglichen Leben darstellt.

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Forschungsarbeit war es, den Zusammenhang von Lebens- und Schlafqualität bei Patienten mit einer NAFLD in Abhängigkeit der Leberfunktion, mittels des LiMax-Testes genauer zu untersuchen. Es konnte gezeigt werden, dass weder die Lebens- noch Schlafqualität mit der durch den LiMax-Test gemessenen Leberfunktion, signifikant zusammenhängen. Die einzige signifikante Korrelation fand sich in der Subdomäne der Lebensqualität „physischer Aktivität“ mit der Leberfunktion. Diese Korrelation konnte nicht zwischen „physischer Aktivität“ und dem Goldstandard „Leberbiopsie“ zur Diagnostik einer NAFLD nachgewiesen werden.

Die bisherige Ergebnislage wird in dieser Studie durch verschiedene Faktoren erklärt. Die Funktionalität der Leber ist im Gegensatz zu den histologischen Leberparenchym-Umbauten ein dynamisches Geschehen. Physische Aktivität hat weitreichende positive Auswirkung auf die Funktion der Leber. Zum einen wird die Widerstandsfähigkeit der Leber gegenüber oxidativem Stress erhöht, zum anderen wird der Lipidstoffwechsel gesteigert und lipogene Enzyme herunterreguliert. Pathophysiologische Grundlage einer verschlechterten Leberfunktion in NAFLD-Patienten sind die DNL, mitochondriale Dysfunktionen sowie durch oxidativen Stress verursachte hepatische Inflammation mit darauffolgender Fibrosierung. Die Korrelation zwischen Leberfunktion, gemessen anhand des LiMax-Testes und physischer Aktivität kann somit darin erklärt werden, dass physische Aktivität den pathophysiologischen Ursachen einer NAFLD-Erkrankung entgegenwirkt und so die Funktion der Hepatozyten verbessert. Lebens- und Schlafqualität für sich allein betrachtet sind subjektive Konstrukte, welche auf biochemischer Ebene keine Auswirkung zur Verbesserung der Leberfunktion vollbringen können. Die erhöhte Sensitivität des LiMax-Testes zu Aussagen über die physische Aktivität gegenüber der Leberbiopsie wird anhand ultrastruktureller, histologisch nicht ersichtlicher Veränderungen in den Hepatozyten erklärt, welche allerdings über die Zeit gesehen zu mikroskopischen Veränderungen in dem Leberparenchym führen können.

Die aus dieser Studie hervorgehenden Ergebnisse leisten einen Beitrag zum Verständnis des Zusammenhangs zwischen Leberfunktion und der physischen Aktivität auf der Grundlage des LiMax-Testverfahrens. Konkret konnten hieraus Erkenntnisse zur Relevanz von physischer Aktivität in Bezug auf den

Krankheitsverlauf der NAFLD gewonnen werden. Dies stellt im Hinblick auf das wachsende Bedürfnis an möglichen Therapieoptionen der NAFLD einen zusätzlichen Ansatz dar.

Der Nutzen dieser Arbeit liegt in der Aufklärung der Krankheitslast der NAFLD in Bezug auf die Funktionalität der Leber und in den Implikationen für zukünftige Forschung zur Verbesserung der optimalen Patientenbetreuung. Dadurch ergänzt die vorliegende Studie die Ergebnisse vorheriger Forschungsarbeiten und bietet durch spannende Resultate einen weiteren Informationsgewinn. Somit kann zukünftigen Forschungen zu dem Themenbereich HRQL in NAFLD-Patienten und dessen Optimierung in allen Domänen der Lebensqualität optimistisch entgegengesehen werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Lonardo A, Byrne CD, Caldwell SH, Cortez-Pinto H, Targher G. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease: Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(4):1388-9.
2. Antunes C, Azadfar M, Gupta M. Fatty Liver. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.

3. Nilsson PM, Tuomilehto J, Rydén L. The metabolic syndrome - What is it and how should it be managed? *Eur J Prev Cardiol*. 2019;26(2_suppl):33-46.
4. Jarvis H, Craig D, Barker R, Spiers G, Stow D, Anstee QM, et al. Metabolic risk factors and incident advanced liver disease in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): A systematic review and meta-analysis of population-based observational studies. *PLoS Med*. 2020;17(4):e1003100.
5. 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.
6. Sharma B, John S. Nonalcoholic Steatohepatitis. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing

Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.

7. Schattenberg JM, Lazarus JV, Newsome PN, Serfaty L, Aghemo A, Augustin S, et al. Disease burden and economic impact of diagnosed non-alcoholic steatohepatitis in five European countries in 2018: A cost-of-illness analysis. *Liver Int*. 2021;41(6):1227-42.
8. Schattenberg JM, Ekstedt M. Assessing the disease burden of non-alcoholic fatty liver disease in the real world - big data and big numbers. *BMC Med*. 2019;17(1):123.
9. Huber Y, Boyle M, Hallsworth K, Tiniakos D, Straub BK, Labenz C, et al. Health-related Quality of Life in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Associates With Hepatic Inflammation. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(10):2085-92.e1.
10. Patel K, Sebastiani G. Limitations of non-invasive tests for assessment of liver fibrosis. *JHEP Rep*. 2020;2(2):100067.
11. Dulai PS, Singh S, Patel J, Soni M, Prokop LJ, Younossi Z, et al. Increased risk of mortality by fibrosis stage in nonalcoholic fatty liver disease: Systematic review and meta-analysis. *Hepatology*. 2017;65(5):1557-65.
12. Taylor RS, Taylor RJ, Bayliss S, Hagström H, Nasr P, Schattenberg JM, et al. Association Between Fibrosis Stage and Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterology*. 2020;158(6):1611-25.e12.
13. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med*. 2001;344(7):495-500.
14. Anstee QM, Lawitz EJ, Alkhoury N, Wong VW, Romero-Gomez M, Okanoue T, et al. Noninvasive Tests Accurately Identify Advanced Fibrosis due to NASH: Baseline Data From the STELLAR Trials. *Hepatology*. 2019;70(5):1521-30.
15. McSweeney L, Breckons M, Fattakhova G, Oluboyede Y, Vale L, Ternent L, et al. Health-related quality of life and patient-reported outcome measures in NASH-related cirrhosis. *JHEP Rep*. 2020;2(3):100099.
16. Wong VW, Chan WK, Chitturi S, Chawla Y, Dan YY, Duseja A, et al. Asia-Pacific Working Party on Non-alcoholic Fatty Liver Disease guidelines 2017-Part 1: Definition, risk factors and assessment. *J Gastroenterol Hepatol*. 2018;33(1):70-85.
17. 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.
18. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol*. 1999;94(9):2467-74.
19. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the

- American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. 2012;55(6):2005-23.
20. Ding L, Oligschlaeger Y, Shiri-Sverdlov R, Houben T. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Handb Exp Pharmacol*. 2020.
21. 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.
22. Eslam M, Newsome PN, Sarin SK, Anstee QM, Targher G, Romero-Gomez M, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: An international expert consensus statement. *J Hepatol*. 2020;73(1):202-9.
23. Liangpunsakul S, Chalasani N. What should we recommend to our patients with NAFLD regarding alcohol use? *Am J Gastroenterol*. 2012;107(7):976-8.
24. Eslam M, Sanyal AJ, George J. MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2020;158(7):1999-2014.e1.
25. Kang SH, Cho Y, Jeong SW, Kim SU, Lee JW. From nonalcoholic fatty liver disease to metabolic-associated fatty liver disease: Big wave or ripple? *Clin Mol Hepatol*. 2021;27(2):257-69.
26. Wai-Sun Wong V, Lai-Hung Wong G, Woo J, Abrigo JM, Ka-Man Chan C, She-Ting Shu S, et al. Impact of the New Definition of Metabolic Associated Fatty Liver Disease on the Epidemiology of the Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020.
27. Targher G. Concordance between MAFLD and NAFLD diagnostic criteria in 'real-world' data. *Liver Int*. 2020;40(11):2879-80.
28. Lazarus JV, Colombo M, Cortez-Pinto H, Huang TT, Miller V, Ninburg M, et al. NAFLD - sounding the alarm on a silent epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(7):377-9.
29. Lonardo A, Nascimbeni F, Maurantonio M, Marrazzo A, Rinaldi L, Adinolfi LE. Nonalcoholic fatty liver disease: Evolving paradigms. *World J Gastroenterol*. 2017;23(36):6571-92.
30. Kupcova V, Fedelesova M, Bulas J, Kozmonova P, Turecky L. Overview of the Pathogenesis, Genetic, and Non-Invasive Clinical, Biochemical, and Scoring Methods in the Assessment of NAFLD. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(19).
31. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism*. 2016;65(8):1038-48.
32. Farrell GC, Haczeyni F, Chitturi S. Pathogenesis of NASH: How Metabolic Complications of Overnutrition Favour Lipotoxicity and Pro-Inflammatory Fatty Liver Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1061:19-44.
33. AISF position paper on nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): Updates and future directions. *Dig Liver Dis*. 2017;49(5):471-83.
34. Bugianesi E, Moscatiello S, Ciaravella M, Marchesini G. Insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Current pharmaceutical design*. 2010;16(17):1941-51.
35. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2008;9(5):367-77.
36. Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, et al. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell Metab*. 2015;21(5):739-46.
37. Trauner M, Arrese M, Wagner M. Fatty liver and lipotoxicity. *Biochim Biophys Acta*. 2010;1801(3):299-310.
38. Pierantonelli I, Svegliati-Baroni G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Basic Pathogenetic Mechanisms in the Progression From NAFLD to NASH. *Transplantation*. 2019;103(1):e1-e13.
39. Portincasa P, Grattagliano I, Lauterburg BH, Palmieri VO, Palasciano G, Stellaard F. Liver breath tests non-invasively predict higher stages of non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Sci (Lond)*. 2006;111(2):135-43.

40. Marchisello S, Di Pino A, Scicali R, Urbano F, Piro S, Purrello F, et al. Pathophysiological, Molecular and Therapeutic Issues of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Overview. *Int J Mol Sci.* 2019;20(8).
 41. Spahis S, Delvin E, Borys JM, Levy E. Oxidative Stress as a Critical Factor in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Pathogenesis. *Antioxid Redox Signal.* 2017;26(10):519-41.
 42. Gonzalez A, Huerta-Salgado C, Orozco-Aguilar J, Aguirre F, Tacchi F, Simon F, et al. Role of Oxidative Stress in Hepatic and Extrahepatic Dysfunctions during Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020:1617805.
 43. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. Meta-analysis: natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and diagnostic accuracy of non-invasive tests for liver disease severity. *Ann Med.* 2011;43(8):617-49.
 44. Czech MP, Tencerova M, Pedersen DJ, Aouadi M. Insulin signalling mechanisms for triacylglycerol storage. *Diabetologia.* 2013;56(5):949-64.
 45. Cheng Z, Tseng Y, White MF. Insulin signaling meets mitochondria in metabolism. *Trends in Endocrinology & Metabolism.* 2010;21(10):589-98.
 46. Templeman NM, Skovsø S, Page MM, Lim GE, Johnson JD. A causal role for hyperinsulinemia in obesity. *J Endocrinol.* 2017;232(3):R173-r83.
 47. Khan RS, Bril F, Cusi K, Newsome PN. Modulation of Insulin Resistance in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.* 2019;70(2):711-24.
 48. Akhtar DH, Iqbal U, Vazquez-Montesino LM, Dennis BB, Ahmed A. Pathogenesis of Insulin Resistance and Atherogenic Dyslipidemia in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Transl Hepatol.* 2019;7(4):362-70.
 49. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends in immunology.* 2004;25(1):4-7.
 50. Aguirre V, Werner ED, Giraud J, Lee YH, Shoelson SE, White MF. Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. *Journal of Biological Chemistry.* 2002;277(2):1531-7.
 51. Bugianesi E, Gastaldelli A, Vanni E, Gambino R, Cassader M, Baldi S, et al. Insulin resistance in non-diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease: sites and mechanisms. *Diabetologia.* 2005;48(4):634-42.
 52. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes care.* 1991;14(3):173-94.
 53. Shimomura I, Bashmakov Y, Horton JD. Increased levels of nuclear SREBP-1c associated with fatty livers in two mouse models of diabetes mellitus. *Journal of Biological Chemistry.* 1999;274(42):30028-32.
 54. Freeman AM, Pennings N. Insulin Resistance. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.
55. Michel M, Schattenberg JM. Effectiveness of lifestyle interventions in NAFLD (nonalcoholic fatty liver disease) - how are clinical trials affected? *Expert Opin Investig Drugs.* 2020;29(2):93-7.
 56. Anty R, Gual P. [Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease]. *Presse Med.* 2019;48(12):1468-83.
 57. Barrera F, George J. The role of diet and nutritional intervention for the management of patients with NAFLD. *Clin Liver Dis.* 2014;18(1):91-112.
 58. Lambert J, Weiskirchen S, Landert S, Weiskirchen R. Fructose: A Dietary Sugar in Crosstalk with Microbiota Contributing to the Development and Progression of Non-Alcoholic Liver Disease. *Front Immunol.* 2017;8:1159.
 59. Dupas J, Goanvec C, Feray A, Guernec A, Alain C, Guerrero F, et al. Progressive Induction of Type 2 Diabetes: Effects of a Reality-Like Fructose Enriched Diet in Young Wistar Rats. *PLoS One.* 2016;11(1):e0146821.
 60. Mohammadi Z, Poustchi H, Motamed-Gorji N, Eghtesad S, Hekmatdoost A, Saniee P, et al. Fecal Microbiota in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Non-Alcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review. *Arch Iran Med.* 2020;23(1):44-52.

61. Armandi A, Schattenberg JM. NAFLD between genes and environment: what drives fibrogenesis? *Gut*. 2020.
62. Aron-Wisnewsky J, Vigiotti C, Witjes J, Le P, Holleboom AG, Verheij J, et al. Gut microbiota and human NAFLD: disentangling microbial signatures from metabolic disorders. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(5):279-97.
63. Chen J, Vitetta L. Gut Microbiota Metabolites in NAFLD Pathogenesis and Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15).
64. Pérez-Montes de Oca A, Julián MT, Ramos A, Puig-Domingo M, Alonso N. Microbiota, Fiber, and NAFLD: Is There Any Connection? *Nutrients*. 2020;12(10).
65. Jadhav K, Cohen TS. Can You Trust Your Gut? Implicating a Disrupted Intestinal Microbiome in the Progression of NAFLD/NASH. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:592157.
66. Ashfaq-Khan M, Aslam M, Qureshi MA, Senkowski MS, Yen-Weng S, Strand S, et al. Dietary wheat amylase trypsin inhibitors promote features of murine non-alcoholic fatty liver disease. *Sci Rep*. 2019;9(1):17463.
67. Schattenberg JM, Bergheim I. Nutritional Intake and the Risk for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients*. 2019;11(3).
68. Safari Z, Gérard P. The links between the gut microbiome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Cell Mol Life Sci*. 2019;76(8):1541-58.
69. Jia W, Rajani C. The Influence of Gut Microbial Metabolism on the Development and Progression of Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1061:95-110.
70. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57(2):601-9.
71. Anstee QM, Darlay R, Cockell S, Meroni M, Govaere O, Tiniakos D, et al. Genome-wide association study of non-alcoholic fatty liver and steatohepatitis in a histologically characterised cohort(☆). *J Hepatol*. 2020;73(3):505-15.
72. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet*. 2008;40(12):1461-5.
73. Krawczyk M, Bantel H, Rau M, Schattenberg JM, Grünhage F, Pathil A, et al. Could inherited predisposition drive non-obese fatty liver disease? Results from German tertiary referral centers. *J Hum Genet*. 2018;63(5):621-6.
74. Mancina RM, Matikainen N, Maglio C, Söderlund S, Lundbom N, Hakkarainen A, et al. Paradoxical dissociation between hepatic fat content and de novo lipogenesis due to PNPLA3 sequence variant. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(5):E821-5.
75. Perakakis N, Stefanakis K, Mantzoros CS. The role of omics in the pathophysiology, diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism*. 2020:154320.
76. Govaere O, Cockell S, Tiniakos D, Queen R, Younes R, Vacca M, et al. Transcriptomic profiling across the nonalcoholic fatty liver disease spectrum reveals gene signatures for steatohepatitis and fibrosis. *Sci Transl Med*. 2020;12(572).
77. Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis*. 2001;21(1):57-69.
78. Hotamisligil GS. Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature*. 2017;542(7640):177-85.
79. Nier A, Huber Y, Labenz C, Michel M, Bergheim I, Schattenberg JM. Adipokines and Endotoxemia Correlate with Hepatic Steatosis in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Nutrients*. 2020;12(3).
80. Gehrke N, Schattenberg JM. Metabolic Inflammation-A Role for Hepatic Inflammatory Pathways as Drivers of Comorbidities in Nonalcoholic Fatty Liver Disease? *Gastroenterology*. 2020;158(7):1929-47.e6.
81. Younossi ZM, Stepanova M, Younossi Y, Golabi P, Mishra A, Rafiq N, et al. Epidemiology of chronic liver diseases in the USA in the past three decades. *Gut*. 2020;69(3):564-8.

82. Estes C, Razavi H, Loomba R, Younossi Z, Sanyal AJ. Modeling the epidemic of nonalcoholic fatty liver disease demonstrates an exponential increase in burden of disease. *Hepatology*. 2018;67(1):123-33.
83. Sheka AC, Adeyi O, Thompson J, Hameed B, Crawford PA, Ikramuddin S. Nonalcoholic Steatohepatitis: A Review. *Jama*. 2020;323(12):1175-83.
84. Loomba R, Adams LA. The 20% Rule of NASH Progression: The Natural History of Advanced Fibrosis and Cirrhosis Caused by NASH. *Hepatology*. 2019;70(6):1885-8.
85. Paik JM, Henry L, De Avila L, Younossi E, Racila A, Younossi ZM. Mortality Related to Nonalcoholic Fatty Liver Disease Is Increasing in the United States. *Hepatol Commun*. 2019;3(11):1459-71.
86. Huber Y, Labenz C, Michel M, Wörns MA, Galle PR, Kostev K, et al. Tumor Incidence in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dtsch Arztebl Int*. 2020;117(43):719-24.
87. Golabi P, Fukui N, Paik J, Sayiner M, Mishra A, Younossi ZM. Mortality Risk Detected by Atherosclerotic Cardiovascular Disease Score in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatol Commun*. 2019;3(8):1050-60.
88. Labenz C, Prochaska JH, Huber Y, Nagel M, Straub BK, Wild P, et al. Cardiovascular Risk Categories in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease and the Role of Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *Hepatol Commun*. 2019;3(11):1472-81.
89. Paik JM, Deshpande R, Golabi P, Younossi I, Henry L, Younossi ZM. The impact of modifiable risk factors on the long-term outcomes of non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;51(2):291-304.
90. Golabi P, Otgonsuren M, de Avila L, Sayiner M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome increase the risk of mortality in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(13):e0214.
91. Wang H, Lu Z, Zhao X. Tumorigenesis, diagnosis, and therapeutic potential of exosomes in liver cancer. *J Hematol Oncol*. 2019;12(1):133.
92. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
93. Hollebecque A, Malka D, Ferté C, Ducreux M, Boige V. Systemic treatment of advanced hepatocellular carcinoma: from disillusion to new horizons. *Eur J Cancer*. 2015;51(3):327-39.
94. Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet*. 2018;391(10127):1301-14.
95. Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology*. 2015;62(6):1723-30.
96. Younossi Z, Stepanova M, Ong JP, Jacobson IM, Bugianesi E, Duseja A, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Is the Fastest Growing Cause of Hepatocellular Carcinoma in Liver Transplant Candidates. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(4):748-55.e3.
97. Plaz Torres MC, Bodini G, Furnari M, Marabotto E, Zentilin P, Strazzabosco M, et al. Surveillance for Hepatocellular Carcinoma in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Universal or Selective? *Cancers (Basel)*. 2020;12(6).
98. Golabi P, Bush H, Stepanova M, Locklear CT, Jacobson IM, Mishra A, et al. Liver Transplantation (LT) for Cryptogenic Cirrhosis (CC) and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH) Cirrhosis: Data from the Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR): 1994 to 2016. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(31):e11518.
99. Cholankeril G, Wong RJ, Hu M, Perumpail RB, Yoo ER, Puri P, et al. Liver Transplantation for Nonalcoholic Steatohepatitis in the US: Temporal Trends and Outcomes. *Dig Dis Sci*. 2017;62(10):2915-22.
100. Younossi ZM, Stepanova M, Ong J, Trimble G, AlQahtani S, Younossi I, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis Is the Most Rapidly Increasing Indication for Liver Transplantation in the United States. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020.
101. Ye Q, Zou B, Yeo YH, Li J, Huang DQ, Wu Y, et al. Global prevalence, incidence, and outcomes of non-obese or lean non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(8):739-52.

102. Younossi ZM, Golabi P, de Avila L, Paik JM, Srishord M, Fukui N, et al. The global epidemiology of NAFLD and NASH in patients with type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol.* 2019;71(4):793-801.
103. Labenz C, Kostev K, Alqahtani SA, Galle PR, Schattenberg JM. Impact of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease on Metabolic Comorbidities in Type 2 Diabetes Mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2021.
104. Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease - A global public health perspective. *J Hepatol.* 2019;70(3):531-44.
105. Paik J, Golabi P, Younoszai Z, Mishra A, Trimble G, Younossi ZM. Chronic kidney disease is independently associated with increased mortality in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Liver Int.* 2019;39(2):342-52.
106. Kaps L, Labenz C, Galle PR, Weinmann-Menke J, Kostev K, Schattenberg JM. Non-alcoholic fatty liver disease increases the risk of incident chronic kidney disease. *United European Gastroenterol J.* 2020:2050640620944098.
107. Mantovani A, Byrne CD, Scorletti E, Mantzoros CS, Targher G. Efficacy and safety of anti-hyperglycaemic drugs in patients with non-alcoholic fatty liver disease with or without diabetes: An updated systematic review of randomized controlled trials. *Diabetes Metab.* 2020.
108. Labenz C, Huber Y, Michel M, Nagel M, Galle PR, Kostev K, et al. Impact of NAFLD on the Incidence of Cardiovascular Diseases in a Primary Care Population in Germany. *Dig Dis Sci.* 2020;65(7):2112-9.
109. Ismaiel A, Dumitraşcu DL. Cardiovascular Risk in Fatty Liver Disease: The Liver-Heart Axis-Literature Review. *Front Med (Lausanne).* 2019;6:202.
110. Gaggini M, Morelli M, Buzzigoli E, DeFronzo RA, Bugianesi E, Gastaldelli A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and its connection with insulin resistance, dyslipidemia, atherosclerosis and coronary heart disease. *Nutrients.* 2013;5(5):1544-60.
111. Zhou YY, Zhou XD, Wu SJ, Fan DH, Van Poucke S, Chen YP, et al. Nonalcoholic fatty liver disease contributes to subclinical atherosclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Hepatol Commun.* 2018;2(4):376-92.
112. Ampuero J, Gallego-Durán R, Romero-Gómez M. Association of NAFLD with subclinical atherosclerosis and coronary-artery disease: meta-analysis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2015;107(1):10-6.
113. DiStefano JK. NAFLD and NASH in Postmenopausal Women: Implications for Diagnosis and Treatment. *Endocrinology.* 2020;161(10).
114. Lonardo A, Nascimbeni F, Ballestri S, Fairweather D, Win S, Than TA, et al. Sex Differences in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: State of the Art and Identification of Research Gaps. *Hepatology.* 2019;70(4):1457-69.
115. Park SH, Jeon WK, Kim SH, Kim HJ, Park DI, Cho YK, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease among Korean adults. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21(1 Pt 1):138-43.
116. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology.* 2002;122(6):1649-57.
117. Nouredin M, Vipani A, Bresee C, Todo T, Kim IK, Alkhouri N, et al. NASH Leading Cause of Liver Transplant in Women: Updated Analysis of Indications For Liver Transplant and Ethnic and Gender Variances. *Am J Gastroenterol.* 2018;113(11):1649-59.
118. O'Hara J, Finnegan A, Dhillon H, Ruiz-Casas L, Pedra G, Franks B, et al. Cost of non-alcoholic steatohepatitis in Europe and the USA: The GAIN study. *JHEP Rep.* 2020;2(5):100142.
119. Younossi ZM, Henry L. Economic and Quality-of-Life Implications of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Pharmacoeconomics.* 2015;33(12):1245-53.
120. Younossi ZM, Tampi R, Priyadarshini M, Nader F, Younossi IM, Racila A. Burden of Illness and Economic Model for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis in the United States. *Hepatology.* 2019;69(2):564-72.
121. Younossi ZM, Tampi RP, Racila A, Qiu Y, Burns L, Younossi I, et al. Economic and Clinical Burden of Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients With Type 2 Diabetes in the United States. *Diabetes Care.* 2019.

122. Trifan A, Stanciu C, Jurcău M, Zenovia S, Frunzuc G, Timofte D. Nonalcoholic steatohepatitis: A scientometric analysis of publications during 1980-2018. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(50):e18221.
123. Zhang JZ, Cai JJ, Yu Y, She ZG, Li H. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: An Update on the Diagnosis. *Gene Expr*. 2019;19(3):187-98.
124. Ratziu V, Cadranel JF, Serfaty L, Denis J, Renou C, Delassalle P, et al. A survey of patterns of practice and perception of NAFLD in a large sample of practicing gastroenterologists in France. *J Hepatol*. 2012;57(2):376-83.
125. Roeb E, Steffen HM, Bantel H, Baumann U, Canbay A, Demir M, et al. [S2k Guideline non-alcoholic fatty liver disease]. *Z Gastroenterol*. 2015;53(7):668-723.
126. Michel M, Schattenberg JM. [Liver-specific diagnostic for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) - time to replace liver biopsy?]. *Z Gastroenterol*. 2020;58(12):1233-40.
127. Ofosu A, Ramai D, Reddy M. Non-alcoholic fatty liver disease: controlling an emerging epidemic, challenges, and future directions. *Ann Gastroenterol*. 2018;31(3):288-95.
128. 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.
129. Leoni S, Tovoli F, Napoli L, Serio I, Ferri S, Bolondi L. Current guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review with comparative analysis. *World J Gastroenterol*. 2018;24(30):3361-73.
130. Mózes FE, Lee JA, Selvaraj EA, Jayaswal ANA, Trauner M, Boursier J, et al. Diagnostic accuracy of non-invasive tests for advanced fibrosis in patients with NAFLD: an individual patient data meta-analysis. *Gut*. 2021.
131. Karim MF, Al-Mahtab M, Rahman S, Debnath CR. Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)--A Review. *Mymensingh Med J*. 2015;24(4):873-80.
132. Gunn NT, Shiffman ML. The Use of Liver Biopsy in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: When to Biopsy and in Whom. *Clin Liver Dis*. 2018;22(1):109-19.
133. Schattenberg JM, Straub BK. On the value and limitations of liver histology in assessing non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2020;73(6):1592-3.
134. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2016;64(6):1388-402.
135. 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.
136. Myers RP, Fong A, Shaheen AA. Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. *Liver Int*. 2008;28(5):705-12.
137. Gilmore I, Burroughs A, Murray-Lyon I, Williams R, Jenkins D, Hopkins A. Indications, methods, and outcomes of percutaneous liver biopsy in England and Wales: an audit by the British Society of Gastroenterology and the Royal College of Physicians of London. *Gut*. 1995;36(3):437-41.
138. Grant A, Neuberger J. Guidelines on the use of liver biopsy in clinical practice. *Gut*. 1999;45(suppl 4):IV1-IV11.
139. Enomoto H, Bando Y, Nakamura H, Nishiguchi S, Koga M. Liver fibrosis markers of nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(24):7427-35.
140. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, et al. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005;128(7):1898-906.
141. Regev A, Berho M, Jeffers LJ, Milikowski C, Molina EG, Pyrsopoulos NT, et al. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *The American journal of gastroenterology*. 2002;97(10):2614-8.
142. Davison BA, Harrison SA, Cotter G, Alkhoury N, Sanyal A, Edwards C, et al. Suboptimal reliability of liver biopsy evaluation has implications for randomized clinical trials. *J Hepatol*. 2020;73(6):1322-32.
143. Schattenberg JM, Straub B. Differenzialdiagnose der Fettlebererkrankung. *Der Gastroenterologe*. 2020;15(2):88-95.

144. 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.
145. Bedossa P. Current histological classification of NAFLD: strength and limitations. *Hepatol Int*. 2013;7 Suppl 2:765-70.
146. Younossi ZM, Stepanova M, Lawitz E, Charlton M, Loomba R, Myers RP, et al. Improvement of hepatic fibrosis and patient-reported outcomes in non-alcoholic steatohepatitis treated with selonsertib. *Liver Int*. 2018;38(10):1849-59.
147. Angulo P, Kleiner DE, Dam-Larsen S, Adams LA, Bjornsson ES, Charatcharoenwitthaya P, et al. Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features, Is Associated With Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2015;149(2):389-97.e10.
148. Geier A, Boursier J. Non-invasive diagnosis of patients with 'at-risk' NAFLD : only fibrosis counts? *Gut*. 2020;69(7):1164-5.
149. 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.
150. Skelly MM, James PD, Ryder SD. Findings on liver biopsy to investigate abnormal liver function tests in the absence of diagnostic serology. *J Hepatol*. 2001;35(2):195-9.
151. Verma S, Jensen D, Hart J, Mohanty SR. Predictive value of ALT levels for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and advanced fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Liver Int*. 2013;33(9):1398-405.
152. Suzuki A, Lymp J, St Sauver J, Angulo P, Lindor K. Values and limitations of serum aminotransferases in clinical trials of nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int*. 2006;26(10):1209-16.
153. Yoneda M, Fujii H, Sumida Y, Hyogo H, Itoh Y, Ono M, et al. Platelet count for predicting fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol*. 2011;46(11):1300-6.
154. Zhang YX, Wu WJ, Zhang YZ, Feng YL, Zhou XX, Pan Q. Noninvasive assessment of liver fibrosis with combined serum aminotransferase/platelet ratio index and hyaluronic acid in patients with chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol*. 2008;14(46):7117-21.
155. 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.
156. Kruger FC, Daniels CR, Kidd M, Swart G, Brundyn K, van Rensburg C, et al. APRI: a simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH. *S Afr Med J*. 2011;101(7):477-80.
157. 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.
158. Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Unalp A, Behling CE, Lavine JE, et al. Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology*. 2009;49(3):809-20.
159. Schmitz SM, Kroh A, Ulmer TF, Andruszkow J, Luedde T, Brozat JF, et al. Evaluation of NAFLD and fibrosis in obese patients - a comparison of histological and clinical scoring systems. *BMC Gastroenterol*. 2020;20(1):254.
160. 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.
161. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology*. 2007;46(1):32-6.
162. Younes R, Rosso C, Blanco MG, Petta S, Miele L, Liguori A, et al. Longitudinal prognostic value of the most common algorithms for fibrosis in non-alcoholic fatty liver disease. An international study in non-cirrhotic, biopsy-proven patients. *Digestive and Liver Disease*. 2019;51:e5.

163. McPherson S, Hardy T, Dufour JF, Petta S, Romero-Gomez M, Allison M, et al. Age as a Confounding Factor for the Accurate Non-Invasive Diagnosis of Advanced NAFLD Fibrosis. *Am J Gastroenterol*. 2017;112(5):740-51.
164. Lee J, Vali Y, Boursier J, Spijker R, Anstee QM, Bossuyt PM, et al. Prognostic accuracy of FIB-4, NAFLD fibrosis score and APRI for NAFLD-related events: A systematic review. *Liver Int*. 2021;41(2):261-70.
165. 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.
166. Karsdal MA, Daniels SJ, Holm Nielsen S, Bager C, Rasmussen DGK, Loomba R, et al. Collagen biology and non-invasive biomarkers of liver fibrosis. *Liver Int*. 2020;40(4):736-50.
167. Boyle M, Tiniakos D, Schattenberg JM, Ratziu V, Bugianessi E, Petta S, et al. Performance of the PRO-C3 collagen neo-epitope biomarker in non-alcoholic fatty liver disease. *JHEP Rep*. 2019;1(3):188-98.
168. Eslam M, Wong GL, Hashem AM, Chan HL, Nielsen MJ, Leeming DJ, et al. A Sequential Algorithm Combining ADAPT and Liver Stiffness Can Stage Metabolic-Associated Fatty Liver Disease in Hospital-Based and Primary Care Patients. *Am J Gastroenterol*. 2021;116(5):984-93.
169. Daniels SJ, Leeming DJ, Eslam M, Hashem AM, Nielsen MJ, Krag A, et al. ADAPT: An Algorithm Incorporating PRO-C3 Accurately Identifies Patients With NAFLD and Advanced Fibrosis. *Hepatology*. 2019;69(3):1075-86.
170. Vali Y, Lee J, Boursier J, Spijker R, Löffler J, Verheij J, et al. Enhanced liver fibrosis test for the non-invasive diagnosis of fibrosis in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2020;73(2):252-62.
171. Selvaraj EA, Mózes FE, Jayaswal ANA, Zafarmand MH, Vali Y, Lee JA, et al. Diagnostic accuracy of elastography and magnetic resonance imaging in patients with NAFLD: A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2021.
172. Castera L, Friedrich-Rust M, Loomba R. Noninvasive Assessment of Liver Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 2019;156(5):1264-81.e4.
173. Tapper EB, Challies T, Nasser I, Afdhal NH, Lai M. The Performance of Vibration Controlled Transient Elastography in a US Cohort of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Am J Gastroenterol*. 2016;111(5):677-84.
174. Nguyen-Khac E, Capron D. Noninvasive diagnosis of liver fibrosis by ultrasonic transient elastography (Fibroscan). *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18(12):1321-5.
175. Castera L, Forns X, Alberti A. Non-invasive evaluation of liver fibrosis using transient elastography. *Journal of hepatology*. 2008;48(5):835-47.
176. Wong VW, Vergniol J, Wong GL, Foucher J, Chan HL, Le Bail B, et al. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;51(2):454-62.
177. Petta S, Maida M, Macaluso FS, Di Marco V, Cammà C, Cabibi D, et al. The severity of steatosis influences liver stiffness measurement in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2015;62(4):1101-10.
178. Lim JK, Flamm SL, Singh S, Falck-Ytter YT. American Gastroenterological Association Institute Guideline on the Role of Elastography in the Evaluation of Liver Fibrosis. *Gastroenterology*. 2017;152(6):1536-43.
179. Kennedy P, Wagner M, Castera L, Hong CW, Johnson CL, Sirlin CB, et al. Quantitative Elastography Methods in Liver Disease: Current Evidence and Future Directions. *Radiology*. 2018;286(3):738-63.
180. Serra-Burriel M, Graupera I, Torán P, Thiele M, Roulot D, Wai-Sun Wong V, et al. Transient elastography for screening of liver fibrosis: Cost-effectiveness analysis from six prospective cohorts in Europe and Asia. *J Hepatol*. 2019;71(6):1141-51.
181. Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B, et al. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. 2011;55(3):666-72.

182. Sugimoto K, Moriyasu F, Oshiro H, Takeuchi H, Abe M, Yoshimasu Y, et al. The Role of Multiparametric US of the Liver for the Evaluation of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Radiology*. 2020;296(3):532-40.
183. Jiang W, Huang S, Teng H, Wang P, Wu M, Zhou X, et al. Diagnostic accuracy of point shear wave elastography and transient elastography for staging hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a meta-analysis. *BMJ Open*. 2018;8(8):e021787.
184. Cassinotto C, Lapuyade B, Guiu B, Marraud des Grottes H, Piron L, Merrouche W, et al. Agreement Between 2-Dimensional Shear Wave and Transient Elastography Values for Diagnosis of Advanced Chronic Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020;18(13):2971-9.e3.
185. Imajo K, Honda Y, Kobayashi T, Nagai K, Ozaki A, Iwaki M, et al. Direct Comparison of US and MR Elastography for Staging Liver Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2020.
186. Permutt Z, Le TA, Peterson MR, Seki E, Brenner DA, Sirlin C, et al. Correlation between liver histology and novel magnetic resonance imaging in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease - MRI accurately quantifies hepatic steatosis in NAFLD. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;36(1):22-9.
187. Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol*. 2011;21(1):87-97.
188. Roeb E, Geier A. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) - current treatment recommendations and future developments. *Z Gastroenterol*. 2019;57(4):508-17.
189. Byun J, Lee SS, Sung YS, Shin Y, Yun J, Kim HS, et al. CT indices for the diagnosis of hepatic steatosis using non-enhanced CT images: development and validation of diagnostic cut-off values in a large cohort with pathological reference standard. *Eur Radiol*. 2019;29(8):4427-35.
190. Gerber LH, Weinstein AA, Mehta R, Younossi ZM. Importance of fatigue and its measurement in chronic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2019;25(28):3669-83.
191. Gorowska-Kowolik K, Chobot A, Kwicien J. (13)C Methacetin Breath Test for Assessment of Microsomal Liver Function: Methodology and Clinical Application. *Gastroenterol Res Pract*. 2017;2017:7397840.
192. Malinowski M, Jara M, Luttgert K, Orr J, Lock JF, Schott E, et al. Enzymatic liver function capacity correlates with disease severity of patients with liver cirrhosis: a study with the LiMAx test. *Dig Dis Sci*. 2014;59(12):2983-91.
193. 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.
194. 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.
195. Rubin TM, Heyne K, Luchterhand A, Jan B, F WRV, Polychronidis G, et al. Kinetic validation of the LiMAx test during 10 000 intravenous (13)C-methacetin breath tests. *J Breath Res*. 2017;12(1):016005.
196. Stockmann M, Lock JF, Riecke B, Heyne K, Martus P, Fricke M, et al. Prediction of postoperative outcome after hepatectomy with a new bedside test for maximal liver function capacity. *Ann Surg*. 2009;250(1):119-25.
197. Heucke N, Wuensch T, Mohr J, Kaffarnik M, Arsenic R, Sinn B, et al. Non-invasive structure-function assessment of the liver by 2D time-harmonic elastography and the dynamic Liver MAXimum capacity (LiMAx) test. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019;34(9):1611-9.
198. 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.
199. Lodewick TM, Alizai PH, van Dam RM, Roeth AAJ, Schmeding M, Heidenhain C, et al. Effect of Age on Liver Function in Patients Undergoing Partial Hepatectomy. *Dig Surg*. 2017;34(3):233-40.

200. Younossi ZM, Boparai N, Price LL, Kiwi ML, McCormick M, Guyatt G. Health-related quality of life in chronic liver disease: the impact of type and severity of disease. *Am J Gastroenterol.* 2001;96(7):2199-205.
201. Alt Y, Grimm A, Schlegel L, Grambihler A, Kittner JM, Wiltink J, et al. The Impact of Liver Cell Injury on Health-Related Quality of Life in Patients with Chronic Liver Disease. *PLoS One.* 2016;11(3):e0151200.
202. David K, Kowdley KV, Unalp A, Kanwal F, Brunt EM, Schwimmer JB. Quality of life in adults with nonalcoholic fatty liver disease: baseline data from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network. *Hepatology.* 2009;49(6):1904-12.
203. Häuser W, Holtmann G, Grandt D. Determinants of health-related quality of life in patients with chronic liver diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004;2(2):157-63.
204. Labenz C, Toenges G, Schattenberg JM, Nagel M, Huber Y, Marquardt JU, et al. Health-related quality of life in patients with compensated and decompensated liver cirrhosis. *Eur J Intern Med.* 2019.
205. Golabi P, Otgonsuren M, Cable R, Felix S, Koenig A, Sayiner M, et al. Non-alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) is associated with impairment of Health Related Quality of Life (HRQOL). *Health Qual Life Outcomes.* 2016;14:18.
206. Yamamura S, Nakano D, Hashida R, Tsutsumi T, Kawaguchi T, Okada M, et al. Patient-reported outcomes in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A narrative review of Chronic Liver Disease Questionnaire-non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020.
207. Younossi ZM. Patient-Reported Outcomes for Patients With Chronic Liver Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(6):793-9.
208. Younossi ZM, Stepanova M, Henry L, Racila A, Lam B, Pham HT, et al. A disease-specific quality of life instrument for non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis: CLDQ-NAFLD. *Liver Int.* 2017;37(8):1209-18.
209. Younossi ZM, Stepanova M, Younossi I, Racila A. Validation of Chronic Liver Disease Questionnaire for Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients With Biopsy-Proven Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(10):2093-100.e3.
210. Martin LM, Younossi ZM. Health-related quality of life (HRQL) in chronic liver disease. *Dig Liver Dis.* 2005;37(11):819-20.
211. Younossi ZM, Stepanova M, Anstee QM, Lawitz EJ, Wai-Sun Wong V, Romero-Gomez M, et al. Reduced Patient-Reported Outcome Scores Associate With Level of Fibrosis in Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2019;17(12):2552-60.e10.
212. Younossi ZM, Golabi P, Henry L. A Comprehensive Review of Patient-reported Outcomes in Patients With Chronic Liver Diseases. *J Clin Gastroenterol.* 2019;53(5):331-41.
213. Elliott C, Frith J, Day CP, Jones DE, Newton JL. Functional impairment in alcoholic liver disease and non-alcoholic fatty liver disease is significant and persists over 3 years of follow-up. *Dig Dis Sci.* 2013;58(8):2383-91.
214. Younossi ZM, Stepanova M, Lawitz EJ, Reddy KR, Wai-Sun Wong V, Mangia A, et al. Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis Experience Severe Impairment of Health-Related Quality of Life. *Am J Gastroenterol.* 2019;114(10):1636-41.
215. Dan AA, Kallman JB, Wheeler A, Younoszai Z, Collantes R, Bondini S, et al. Health-related quality of life in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007;26(6):815-20.
216. Weinstein AA, de Avila L, Paik J, Golabi P, Escheik C, Gerber L, et al. Cognitive Performance in Individuals With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and/or Type 2 Diabetes Mellitus. *Psychosomatics.* 2018;59(6):567-74.
217. Labenz C, Huber Y, Michel M, Nagel M, Galle PR, Kostev K, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease Increases the Risk of Anxiety and Depression. *Hepatol Commun.* 2020;4(9):1293-301.
218. Soto-Angona Ó, Anmella G, Valdés-Flórida MJ, De Uribe-Viloria N, Carvalho AF, Penninx B, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) as a neglected metabolic companion of psychiatric disorders: common pathways and future approaches. *BMC Med.* 2020;18(1):261.

219. Younossi ZM, Guyatt G, Kiwi M, Boparai N, King D. Development of a disease specific questionnaire to measure health related quality of life in patients with chronic liver disease. *Gut*. 1999;45(2):295-300.
220. Chawla KS, Talwalkar JA, Keach JC, Malinchoc M, Lindor KD, Jorgensen R. Reliability and validity of the Chronic Liver Disease Questionnaire (CLDQ) in adults with non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *BMJ Open Gastroenterol*. 2016;3(1):e000069.
221. Funuyet-Salas J, Pérez-San-Gregorio M, Martín-Rodríguez A, Romero-Gómez M. Quality of Life and Coping in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Influence of Diabetes and Obesity. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(7).
222. Yamamura S, Nakano D, Hashida R, Tsutsumi T, Kawaguchi T, Okada M, et al. Patient-reported outcomes in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A narrative review of Chronic Liver Disease Questionnaire-non-alcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2021;36(3):629-36.
223. Huang R, Fan JG, Shi JP, Mao YM, Wang BY, Zhao JM, et al. Health-related quality of life in Chinese population with non-alcoholic fatty liver disease: a national multicenter survey. *Health Qual Life Outcomes*. 2021;19(1):140.
224. Younossi ZM, Stepanova M, Noureddin M, Kowdley KV, Strasser SI, Kohli A, et al. Improvements of Fibrosis and Disease Activity Are Associated With Improvement of Patient-Reported Outcomes in Patients With Advanced Fibrosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatol Commun*. 2021;5(7):1201-11.
225. Ohayon MM. Epidemiology of insomnia: what we know and what we still need to learn. *Sleep Med Rev*. 2002;6(2):97-111.
226. Watanabe M, Kikuchi H, Tanaka K, Takahashi M. Association of short sleep duration with weight gain and obesity at 1-year follow-up: a large-scale prospective study. *Sleep*. 2010;33(2):161-7.
227. Chaput JP, Després JP, Bouchard C, Astrup A, Tremblay A. Sleep duration as a risk factor for the development of type 2 diabetes or impaired glucose tolerance: analyses of the Quebec Family Study. *Sleep Med*. 2009;10(8):919-24.
228. Brocato J, Wu F, Chen Y, Shamy M, Alghamdi MA, Khoder MI, et al. Association between sleeping hours and cardiometabolic risk factors for metabolic syndrome in a Saudi Arabian population. *BMJ Open*. 2015;5(11):e008590.
229. Gallicchio L, Kalesan B. Sleep duration and mortality: a systematic review and meta-analysis. *J Sleep Res*. 2009;18(2):148-58.
230. Newton JL. Systemic symptoms in non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases*. 2010;28(1):214-9.
231. Bernsmeier C, Weisskopf DM, Pflueger MO, Mosimann J, Campana B, Terracciano L, et al. Sleep Disruption and Daytime Sleepiness Correlating with Disease Severity and Insulin Resistance in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Comparison with Healthy Controls. *PLoS One*. 2015;10(11):e0143293.
232. Bos MM, Noordam R, van den Berg R, de Mutsert R, Rosendaal FR, Blauw GJ, et al. Associations of sleep duration and quality with serum and hepatic lipids: The Netherlands Epidemiology of Obesity Study. *J Sleep Res*. 2019;28(4):e12776.
233. Marin-Alejandre BA, Abete I, Cantero I, Riezu-Boj JI, Milagro FI, Monreal JI, et al. Association between Sleep Disturbances and Liver Status in Obese Subjects with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Comparison with Healthy Controls. *Nutrients*. 2019;11(2).
234. Miyake T, Kumagi T, Furukawa S, Hirooka M, Kawasaki K, Koizumi M, et al. Short sleep duration reduces the risk of nonalcoholic fatty liver disease onset in men: a community-based longitudinal cohort study. *J Gastroenterol*. 2015;50(5):583-9.
235. Imaizumi H, Takahashi A, Tanji N, Abe K, Sato Y, Anzai Y, et al. The Association between Sleep Duration and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease among Japanese Men and Women. *Obes Facts*. 2015;8(4):234-42.
236. Kim CW, Yun KE, Jung HS, Chang Y, Choi ES, Kwon MJ, et al. Sleep duration and quality in relation to non-alcoholic fatty liver disease in middle-aged workers and their spouses. *J Hepatol*. 2013;59(2):351-7.

237. Kim JH, Jung DH, Kwon YJ, Lee JI, Shim JY. The impact of the sleep duration on NAFLD score in Korean middle-aged adults: a community-based cohort study. *Sleep Med.* 2019;57:144-50.
238. Chou YT, Cheng HJ, Wu JS, Yang YC, Chou CY, Chang CJ, et al. The association of sleep duration and sleep quality with non-alcoholic fatty liver disease in a Taiwanese population. *Obes Res Clin Pract.* 2018;12(6):500-5.
239. Cao X, Zhou J, Yuan H, Chen Z. Association between sleep condition and arterial stiffness in Chinese adult with nonalcoholic fatty liver disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2016;42(1):127-34.
240. Buysse DJ, Reynolds CF, 3rd, Monk TH, Berman SR, Kupfer DJ. The Pittsburgh Sleep Quality Index: a new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989;28(2):193-213.
241. Takahashi A, Anzai Y, Kuroda M, Kokubun M, Kondo Y, Ogata T, et al. Effects of sleep quality on non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional survey. *BMJ Open.* 2020;10(10):e039947.
242. Schoeller DA, Schneider JF, Solomons NW, Watkins JB, Klein PD. Clinical diagnosis with the stable isotope ¹³C in CO₂ breath tests: methodology and fundamental considerations. *J Lab Clin Med.* 1977;90(3):412-21.
243. Arshad T, Henry L, Younossi ZM. Validation of the chronic liver disease questionnaire for non-alcoholic steatohepatitis in patients: impact for the clinic. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13(8):709-10.
244. Mollayeva T, Thurairajah P, Burton K, Mollayeva S, Shapiro CM, Colantonio A. The Pittsburgh sleep quality index as a screening tool for sleep dysfunction in clinical and non-clinical samples: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev.* 2016;25:52-73.
245. Gutteling JJ, de Man RA, van der Plas SM, Schalm SW, Busschbach JJ, Darlington AS. Determinants of quality of life in chronic liver patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006;23(11):1629-35.
246. Newton JL, Jones DE, Henderson E, Kane L, Wilton K, Burt AD, et al. Fatigue in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is significant and associates with inactivity and excessive daytime sleepiness but not with liver disease severity or insulin resistance. *Gut.* 2008;57(6):807-13.
247. Labenz C, Baron JS, Toenges G, Schattenberg JM, Nagel M, Sprinzl MF, et al. Prospective evaluation of the impact of covert hepatic encephalopathy on quality of life and sleep in cirrhotic patients. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;48(3):313-21.
248. Shephard RJ, Johnson N. Effects of physical activity upon the liver. *Eur J Appl Physiol.* 2015;115(1):1-46.
249. Trefts E, Williams AS, Wasserman DH. Exercise and the Regulation of Hepatic Metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;135:203-25.
250. Kim D, Vazquez-Montesino LM, Li AA, Cholankeril G, Ahmed A. Inadequate Physical Activity and Sedentary Behavior Are Independent Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.* 2020;72(5):1556-68.
251. Huber Y, Galle PR, Schattenberg JM. [What is the (right) target for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)?]. *Z Gastroenterol.* 2020;58(1):68-73.
252. Cook N, Geier A, Schmid A, Hirschfield G, Kautz A, Schattenberg JM, et al. Assessing physician preferences on future therapeutic options and diagnostic practices in non-alcoholic steatohepatitis. *JHEP Rep.* 2020;2(2):100081.
253. Hanson JA, Huecker MR. Sleep Deprivation. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing
- Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC.; 2021.
254. Huang BH, Hamer M, Duncan MJ, Cistulli PA, Stamatakis E. The bidirectional association between sleep and physical activity: A 6.9 years longitudinal analysis of 38,601 UK Biobank participants. *Prev Med.* 2021;143:106315.
255. Mead MP, Baron K, Sorby M, Irish LA. Daily Associations Between Sleep and Physical Activity. *Int J Behav Med.* 2019;26(5):562-8.

256. Hagström H, Nasr P, Ekstedt M, Hammar U, Stål P, Hultcrantz R, et al. Fibrosis stage but not NASH predicts mortality and time to development of severe liver disease in biopsy-proven NAFLD. *J Hepatol.* 2017;67(6):1265-73.
257. Younossi ZM, Anstee QM, Wai-Sun Wong V, Trauner M, Lawitz EJ, Harrison SA, et al. The Association of Histologic and Noninvasive Tests With Adverse Clinical and Patient-Reported Outcomes in Patients With Advanced Fibrosis Due to Nonalcoholic Steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2021;160(5):1608-19.e13.
258. Kennedy-Martin T, Bae JP, Paczkowski R, Freeman E. Health-related quality of life burden of nonalcoholic steatohepatitis: a robust pragmatic literature review. *J Patient Rep Outcomes.* 2017;2:28.
259. Rethorst CD, Bernstein I, Trivedi MH. Inflammation, obesity, and metabolic syndrome in depression: analysis of the 2009-2010 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *J Clin Psychiatry.* 2014;75(12):e1428-32.
260. Posadzki P, Pieper D, Bajpai R, Makaruk H, Könsgen N, Neuhaus AL, et al. Exercise/physical activity and health outcomes: an overview of Cochrane systematic reviews. *BMC Public Health.* 2020;20(1):1724.
261. Kim D, Konyn P, Cholankeril G, Ahmed A. Physical Activity Is Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Significant Fibrosis Measured by FibroScan. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2021.

Danksagung

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater für das Thema dieser Arbeit und die stetige Erreichbarkeit bei Unklarheiten und Fragen.

Ich bedanke mich herzlichst bei meinem Betreuer für seine hervorragende Betreuung. Zwischen seinen Verpflichtungen in der Klinik fand er stets die Zeit mir unterstützend zur Seite zu stehen.

Zusätzlich bedanke ich mich bei meiner Kommilitonin für die großartige Teamarbeit bei der Datenerhebung dieser Arbeit..

Ich bedanke mich ebenso bei meiner Mama und meiner Schwester für Ihre stetigen Ratschläge, unendliche Geduld und das Korrekturlesen dieser Arbeit.

Zuletzt geht mein größter Dank an meine beiden Eltern sowie meinen Stiefeltern. Ihre uneingeschränkte Unterstützung bei all meinen Vorsätzen machten dieses Studium und diese Dissertation erst möglich.