

Aus dem Institut für klinische Diabetologie
Deutsches Diabetes-Zentrum an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Düsseldorf, Deutschland
Direktor: Prof. Dr. med. univ. Michael Roden

Validierung des Fatty Liver Index mittels Protonen-Magnetresonananzspektroskopie

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Kathrin Keßel

2018

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. univ. Michael Roden

Zweitgutachter: Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Flögel

Meinen Eltern

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Sabine Kahl, Klaus Straßburger, Bettina Nowotny, Roshan Livingstone, Birgit Klüppelholz, Kathrin Keßel, Jong-Hee Hwang, Guido Giani, Barbara Hoffmann, Giovanni Pacini, Amalia Gastaldelli, Michael Roden “Comparison of Liver Fat Indices for the Diagnosis of Hepatic Steatosis and Insulin Resistance.” Edited by Michael Müller. *PLoS ONE* 9, no. 4 (April 14, 2014):e94059.

ZUSAMMENFASSUNG

Forschungsstand: Die nicht-alkoholischen Fettlebererkrankungen (NAFLD) sind häufig mit Adipositas und Typ-2 Diabetes assoziiert. Insbesondere in den Industrienationen nimmt die Prävalenz der NAFLD, bedingt durch zunehmende Überernährung und Bewegungsmangel, stetig zu. Die Pathogenese der NAFLD ist zurzeit nicht vollständig geklärt, wobei die Insulinresistenz eine Schlüsselrolle spielen dürfte. Als Goldstandard zur Abklärung der NAFLD gilt die Leberbiopsie, durch welche zusätzlich zwischen einfacher nicht-alkoholischer Fettleber (Steatose) und fortgeschrittenen Formen wie z.B.: nicht-alkoholischer Fettleberhepatitis (NASH) differenziert werden kann. Als Goldstandard für die Quantifizierung des hepatozellulären Lipidgehaltes (HCL) und somit für die Diagnose der Steatose steht seit einiger Zeit die Protonen-Magnetresonanztomographie ($^1\text{H-MRS}$) zur Verfügung. Da diese Verfahren entweder invasiv oder kosten- und zeitaufwendig sind, wurden mehrere Indices zur Abschätzung des HCL entwickelt, darunter auch der Fatty Liver Index (FLI), welcher auf klinisch einfach zugänglichen Parametern basiert (Gamma-Glutamyl-Transferase, Serum-Triglyzeride, Body-Mass-Index und Taillenumfang).

Fragestellung: Da der FLI bisher lediglich mit den Ergebnissen der Leber-Sonografie, die keine quantitative Aussage über den HCL erlaubt, verglichen wurde, war das Ziel dieser Arbeit, die Validierung des FLI mittels $^1\text{H-MRS}$.

Methodik: Die untersuchte Kohorte bestand aus 92 Probanden ohne Diabetes mellitus, bei welchen eine klinische Untersuchung, ein oraler Glukosetoleranztest (OGTT) sowie eine $^1\text{H-MRS}$ der Leber durchgeführt wurden. Die Aussagekraft des FLI wurde durch die *area under the receiver operating characteristic curve* (AROC) bestimmt. Des Weiteren wurde der FLI mit Parametern der Insulinsensitivität und der Insulinsekretion verglichen.

Ergebnisse: Der Median des HCL des Probandenkollektivs lag bei 2,49% (0,62; 4,23). Der FLI erzielte einen AROC-Wert von 0,72 zur Diagnose der Steatose. Der FLI korrelierte mit dem HCL, Insulinresistenz [Composite Insulin Sensitivity Index (ISI_{comp}), Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS), Qualitative Insulin Sensitivity Check Index (Quicki)] und β -Zellfunktion [Disposition Index (DI), Adaption Index (AI), Insulinogenic Index ($\text{ISI}_{\text{Ins-In}}$), hepatische Insulinextraktion (Hep_Extra)]. Die Korrelation zwischen

FLI und Insulinresistenz bzw. β -Zellfunktion blieb auch nach Adjustierung von Alter, Geschlecht, HCL und Alkoholkonsum erhalten.

Schlussfolgerung: Der FLI erwies sich als mäßig guter Index zur Prädiktion einer Steatose. Er kann somit zum Screening herangezogen werden, eine ^1H -MRS-Untersuchung jedoch keinesfalls ersetzen. Interessanterweise erwies sich der FLI als guter Index zur Abschätzung einer möglichen Insulinresistenz und einer Funktionsstörung der β -Zellen.

ABSTRACT

Validation of the Fatty Liver Index using ¹H-magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS)

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is associated with visceral obesity and type 2 diabetes (T2DM). Growing prevalence of NAFLD can be observed in industrialised countries due to excessive calorie intake and physical inactivity. The pathogenesis of NAFLD has not yet been fully elucidated. Apparently, insulin resistance plays a key role in the pathogenesis of NAFLD. The gold standard for the diagnosis of NAFLD is the liver biopsy by which the simple non-alcoholic fatty liver (Steatosis) and more advanced stages, for example non-alcoholic steatohepatitis (NASH), can be distinguished. ¹H-magnetic resonance spectroscopy (¹H-MRS) allows for exact quantification of hepatocellular lipid content (HCL) for diagnosis of steatosis. As this technique is time-consuming and expensive, several indices, such as fatty liver index (FLI), have been developed to simplify the identification of increased HCL in daily routine. FLI is based on routine laboratory and anthropometric parameters (gamma-glutamyl transferase, serum triglyceride, body mass index, and waist circumference).

Objective: The original study to propose FLI as measure of HCL was validated using ultrasonography, a method unable to provide a qualitative assessment of HCL. In this study we aimed to validate FLI using ¹H-MRS in a non-diabetic population.

Methods: We analysed data from 92 non-diabetic study participants who underwent clinical examination, an oral glucose tolerance test (OGTT) and ¹H-MRS. Accuracy of the FLI was assessed from the area under the receiver operating characteristic curve (AROC). Additionally, the relationship between FLI and insulin sensitivity and secretion was evaluated.

Results: Median HCL was 2.49% (0.62; 4.23). FLI discriminated between patients with and without steatosis with an AROC of 0.72 and related positively to HCL, insulin resistance [Composite Insulin Sensitivity Index (ISComp), Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS), Qualitative Insulin Sensitivity Check Index (Quicki)] and β -cell function [Disposition Index (DI), Adaption Index (AI), Insulinogenic Index (ISI_{Ins-In}), hepatic insu-

lin extraction (Hep_Extr)]. Even after adjustment for age, sex, HCL, and alcohol consumption, correlations between FLI and insulin resistance and β -cell function, respectively, were still present.

Conclusion: FLI offers modest diagnostic efficacy in detection of steatosis and might be used as screening parameter for HCL. ^1H -MRS cannot be replaced by FLI. Interestingly, FLI turned out to be a useful index for rough estimation of abnormal insulin sensitivity and secretion.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADA.....	American Diabetes Association
ADH.....	Alkoholdehydrogenase
AFLD.....	alkoholische Fettlebererkrankung (alcoholic fatty liver disease)
AI.....	Adaption Index
ALT = GPT.....	Alanin-Aminotransferase = Glutamat-Pyruvat-Transaminase
AMP.....	Adenosinmonophosphat
AUC.....	area under the curve
AROC.....	area under the receiver operating characteristics curve
AST = GOT.....	Aspartat-Aminotransferase = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
ATP.....	Adenosintriphosphat
ATtot.....	gesamtes Fettgewebe (adipose tissue)
BMI.....	Body-Mass-Index
CDT.....	Carbohydrat-defizientes Transferrin (Carbohydrate-Deficient-Transferrin)
ChREBP.....	carbohydrate response element binding protein
CP0.....	Nüchtern-C-Peptidspiegel
CT.....	Computertomografie
DBP.....	diastolischer Blutdruck (diastolic blood pressure)
DDG.....	Deutsche Diabetes Gesellschaft
DHS.....	Dallas Heart Study
DI.....	Disposition Index
DNA.....	Desoxyribonukleinsäure (deoxyribonucleic acid)
F.....	weiblich (female)
FaCoA.....	fatty acyl-Coenzyme A
FFA.....	freie Fettsäuren (free fatty acids)
FL.....	Fettleber
FLD.....	Fettlebererkrankung (fatty liver disease)
FLI.....	Fatty Liver Index
FOV.....	Field of View
G ₀	Nüchtern-Plasma-Glukosespiegel
G ₃₀ , G ₆₀ , G ₁₂₀	Plasma-Glukosespiegel nach 30, 60 bzw. 120 Minuten
G _m	mittlere Plasma-Glukosekonzentration
GGT.....	Gamma-Glutamyl-Transferase

GOT = AST	Glutamat-Oxalazetat-Transaminase = Aspartat-Aminotransferase
GPT = ALT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase = Alanin-Aminotransferase
GRE	gradient recalled echo
HAART	Hochaktive antiretrovirale Therapie
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HCL	hepatozellulärer Lipidgehalt
HDL	High Density Lipoprotein
Hep_ Extr	hepatische Insulinextraktion
HbA _{1c}	glykosyliertes Hämoglobin A _{1c}
¹ H-MRS	Protonen-Magnetresonanzspektroskopie
HSI	Hepatic Steatosis Index
HU	Hounsfield Einheiten (Hounsfield Units)
HVOL	Lebervolumen (hepatic volume)
I ₀	Nüchtern-Plasma-Insulinspiegel
I ₃₀ , I ₆₀ , I ₁₂₀	Plasma-Insulinspiegel nach 30, 60 bzw. 120 Minuten
I _m	mittlere Plasma-Insulinkonzentration
IGI	Insulinogenic Index
IL	Interleukin
Ins-release	Insulinfreisetzung
ISI _{comp}	composite insulin sensitivity index (Matsuda Index)
LDL	Low density lipoprotein
LFS	liver fat score
Ln	Logarithmus
LR	Likelihood ratio
LRA	Niedriger Alkoholkonsum nach Klassifikation der WHO (low-risk-alcohol) consumption)
M	männlich (male)
MCV	mittleres korpuskuläres Volumen der Erythrozyten
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
MODY	Maturity-Onset Diabetes of the Young
MRS	Magnetresonanzspektroskopie
MRT	Magnetresonanztomografie
MS	Metabolisches Syndrom
N	Grundgesamtheit
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid

NAFL.....	nicht-alkoholische Fettleber
NAFLD.....	nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (non-alcoholic fatty liver disease)
NASH.....	nicht-alkoholische Steatohepatitis
NSAID.....	nichtsteroidales Antirheumatikum (non-steroidal anti-inflammatory drugs)
OGIS.....	Oral Glucose Insulin Sensitivity Index
OGTT.....	oraler Glukosetoleranztest
Ppm.....	parts per million (10 ⁻⁶)
QUICKI.....	Qualitative Insulin Sensitivity Check Index
RNA.....	Ribonukleinsäure (ribonucleic acid)
ROI.....	Region of Interest
ROS.....	Reaktive Sauerstoffspezies
SAT.....	subkutanes Fettgewebe (subcutaneous adipose tissue)
SBP.....	systolischer Blutdruck (systolic blood pressure)
Se.....	Sensitivität
SOP.....	standardisiertes Vorgehen (Standard Operating Procedure)
Sp.....	Spezifität
s-RBP4.....	serum retinol binding protein 4
SREBP-1.....	sterol regulatory element-binding protein 1
STEAM.....	stimulated echo acquisition mode
SOCS.....	suppressor of cytokine signaling
SHIP.....	Study of Health in Pomerania
T2DM.....	Diabetes mellitus Typ 2
TE.....	Echozeit (time of echo)
TG.....	Triglyzeride
TNF.....	Tumornekrosefaktor
TR.....	Repetitionszeit (time of repetition)
VLDL.....	Very Low Density Lipoprotein
VAT.....	viszerales Fettgewebe (visceral adipose tissue)
WHO.....	Weltgesundheitsorganisation (World Health Organization)

INHALTSVERZEICHNIS

Abbildungsverzeichnis.....	X
Tabellenverzeichnis	XI
1 Einleitung.....	1
1.1 Definition der Fettleber	2
1.1.1 Histologische und MRS-basierte Definition der Fettleber	2
1.2 Ätiologie der Fettlebererkrankung.....	2
1.3 Risikofaktoren für die Entstehung einer NAFLD.....	4
1.4 Pathogenese der NAFLD.....	8
1.4.1 Fettüberschusshypothese	8
1.4.2 Adipozytokinhypothese	10
1.4.3 Die Rolle der Mitochondrien in der Pathogenese der Fettleber.....	11
1.5 Stadieneinteilung der NAFLD.....	11
1.6 Epidemiologie.....	13
1.7 Klinik der NAFLD.....	14
1.8 Lebensstilveränderung als Therapie der NAFLD.....	15
1.9 Diagnose der Fettleber.....	15
1.9.1 Leberbiopsie und histopathologische Untersuchung	15
1.9.2 Bildgebende Diagnosemöglichkeiten	17
1.9.2.1 Sonografie.....	18
1.9.2.2 Native Computertomografie.....	18
1.9.2.3 Konventionelle Magnetresonanztomografie.....	19
1.9.2.4 Magnetresonanztomografie (MRS).....	19
1.9.3 Laborparameter und Indices zur nicht-invasiven Bestimmung einer Steatosis hepatis.....	21
1.10 Fatty Liver Index	21
1.11 Ziele dieser Arbeit	23
2 Materialien, Methoden und Studienkollektiv.....	24
2.1 Materialien.....	24
2.1.1 Verbrauchsmaterialien	24
2.1.1.1 Blutentnahme.....	24
2.1.1.2 Abnehmeröhrchen.....	25
2.1.1.3 Oraler Glukosetoleranztest	25
2.1.1.4 Probenverarbeitung.....	25
2.1.2 Geräte.....	26
2.1.2.1 MRT/MRS	26
2.2 Methoden	27
2.2.1 Analysen in der Universitätsklinik Düsseldorf.....	27
2.2.2 Messung der Insulinsensitivität	27
2.2.2.1 Qualitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI)	27
2.2.2.2 Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS).....	27
2.2.2.3 Matsuda Index (ISI _{comp}).....	28
2.2.2.4 Hepatische Insulinextraktion (Hep-Extr).....	28
2.2.3 Messung der Insulinsekretion	28
2.2.3.1 β -Zellfunktion.....	28

2.2.3.2	Insulinogenic Index (IGI_{ins} , $IGI_{ins-tot}$, IGI_{cp} , IGI_{cp-tot})	29
2.2.3.3	Disposition-Index (DI) und Adaptation-Index (AI)	30
2.2.4	Fatty Liver Index (FLI)	30
2.2.5	Statistische Analysen	30
2.3	Studienkollektiv	32
2.3.1	Nationale Kohorte	32
2.3.2	Probandenkollektiv und -rekrutierung	32
2.4	Ablauf der Studie und Ausschlusskriterien	33
2.4.1	Interview	34
2.4.2	Anthropometrie	34
2.4.3	Oraler Glukosetoleranztest und Blutentnahme	35
2.4.4	1H -MRS und MRT	38
3	Ergebnisse	40
3.1	Ausschlusskriterien	40
3.2	Patientencharakteristika	41
3.3	Laborchemische Charakteristika	42
3.3.1	Lebervolumen und Fettgewebe	43
3.3.2	Hepatozellulärer Lipidgehalt (HCL)	44
3.3.3	Berechnung des FLI	44
3.3.4	Diagnostische Treffsicherheit des FLI	45
3.3.5	ROC/AROC	45
3.3.6	AROC Werte für verschiedene HCL Cut-Off-Werte	46
3.3.7	Optimaler Cut-Off-Wert für den FLI	46
3.4	Korrelation des hepatozellulären Lipidgehalts und des FLI mit dem Blutglukosespiegel, der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion	47
3.4.1	Blutglukosespiegel	47
3.4.2	Insulin- und C-Peptidkonzentrationen	48
3.5	Korrelation des HCL und des FLI mit der Fettverteilung, der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion	49
3.5.1	Leberfettgehalt, Lebervolumen und Fettverteilung	50
3.5.2	Insulinsensitivität	51
3.5.3	β -Zellfunktion	52
3.6	Assoziation des FLI mit der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion nach Angleichung von Alter, Geschlecht, HCL und LRA	53
4	Diskussion	55
4.1	Vergleich mit Bedogni	55
4.2	Sonografie	56
4.3	Vergleich mit Cuthbertson et al. (2014)	57
4.4	Veränderung des Grenzwertes für die Definition einer Steatosis hepatis in der 1H -MRS	58
4.5	Korrelation des Fatty Liver Index mit Insulinresistenz und Insulinsekretion ..	58
4.6	FLI in weiteren Studien	59
4.7	HSI und NAFLD-LFS im Vergleich zum FLI	60
4.8	Einfluss des Alkoholkonsums auf die Entstehung einer Steatosis hepatis	61
4.9	Schlussfolgerung	62
	Literaturverzeichnis	63

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1:	Fettstoffwechsel der Leber im Rahmen der Steatosis hepatis	9
Abb. 2:	Darstellung von normalem Leberparenchym sowie verschiedener Stadien der Steatosis hepatis in der MRS	20
Abb. 3:	Vergleich des hepatozellulären Lipidgehalts (HCL in %) bei Probanden mit und ohne Steatosis hepatis	44
Abb. 4:	Vergleich des FLI bei Probanden mit und ohne Steatosis hepatis	44
Abb. 5:	ROC Kurve	45
Abb. 6:	AROC des FLI für unterschiedliche HCL Cut-Off-Werte	46
Abb. 7:	Plasmaglukosespiegel der Gesamtkohorte während des OGTT	47
Abb. 8:	Plasmaglukosespiegel der LRA-Gruppe während des OGTT	47
Abb. 9:	Insulin- und C- Peptidkonzentrationen der Gesamtgruppe während des OGTT	48
Abb. 10:	Insulin- und C-Peptidkonzentrationen der LRA-Gruppe während des OGTT	48

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Sekundäre Ursachen für eine NAFLD.....	4
Tabelle 2: Prävalenz der NAFLD nach Region	13
Tabelle 3: Steatosegrade nach konsensbasierten Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten.....	16
Tabelle 4: Vor- und Nachteile verschiedener Untersuchungsmodalitäten.....	17
Tabelle 5: Diagnostische Genauigkeit des Fatty Liver Index nach Validierung mittels Sonografie durch Bedogni et al.....	23
Tabelle 6: Basischarakteristika	41
Tabelle 7: Laborchemische Patientencharakteristika.....	42
Tabelle 8: Lebertvolumen und Fettgewebe.....	43
Tabelle 9: Korrelation des HCL und des FLI mit der Körperfettverteilung	50
Tabelle 10: Korrelation des hepatozellulären Lipidgehalts (HCL) und des FLI mit der Insulinsensitivität	51
Tabelle 11: Korrelation des HCL und des FLI mit der β -Zellfunktion.....	52
Tabelle 12: Assoziation des FLI mit der Insulinsensitivität und β -Zellfunktion nach Angleichung von Alter, Geschlecht, HCL (Model-1) und zusätzlich LRA (Model-2)	54
Tabelle 13: Validierung des FLI mittels Sonografie in unterschiedlichen Kohorten	56
Tabelle 14: HCL und FLI in der von Cuthbertson et al. durchgeführten Studie und der vorliegenden Arbeit im Vergleich	57
Tabelle 15: Aussagekraft von FLI, HSI und NAFLD-LFS im Vergleich	60

1 EINLEITUNG

Die Fettleber (Steatosis hepatis) gehört zu den häufigsten Lebererkrankungen in den westlichen Industrienationen [1]. Liegt im histologischen Präparat eine hepatozelluläre Lipidspeicherung von >5-10% des Lebergewichts oder bei >50% der Hepatozyten in Form von mittel- bis großtropfigen Fettakkumulationen vor, handelt es sich um eine auffällige Ansammlung von Fett in der Leber und man spricht von einer Steatosis hepatis [2]. Ursächlich für die Steatosis hepatis ist eine Störung des Fettsäurestoffwechsels der Leber, infolgedessen es zu einer Einlagerung von Fett, vor allem von Triglyzeriden, in die Hepatozyten kommt [3]. Die Hauptauslöser einer solchen Fettstoffwechselstörung sind eine erhöhte Kalorienzufuhr, ein dauerhaft gesteigerter Alkoholkonsum oder eine Aufnahme von hepatotoxischen Substanzen [4].

Im Folgenden findet vor allem die nichtalkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) nähere Betrachtung. Von einer NAFLD spricht man, wenn Ursachen einer sekundären Einlagerung von Fett in der Leber, beispielsweise ein erhöhter Alkoholkonsum, ausgeschlossen werden können [5].

Als Goldstandard-Methode zur Diagnose einer NAFLD galt lange die Leberbiopsie [6]. In den vergangenen Jahren hat sich die Magnetresonanztomographie (MRS) zur Goldstandard-Methode zur Diagnose der NAFLD entwickelt [7]. Bei der MRS handelt es sich um eine nicht-invasive, aber aufwändige Methode.

Zur einfachen, nicht-invasiven Vorhersage der NAFLD entwickelte eine italienische Forschergruppe um Giorgio Bedogni einen Index, den sogenannten „Fatty Liver Index“ (FLI). Hierbei handelt es sich um einen Algorithmus der aus Serum-Triglyzeriden (mg/dl), BMI (kg/m²), Gamma-GT (U/L) und Taillenumfang (cm) die Wahrscheinlichkeit des Vorliegens einer NAFLD berechnet [8]. Bisher kam der FLI vor allem im Rahmen von Studien zur Anwendung. Überprüft haben Bedogni et. al den FLI mittels Sonografie, deren Ergebnisse allerdings stark untersucherabhängig sind [8; 9]. In der folgenden Studie sollte nun die Aussagekraft des FLI mittels Protonen-Magnetresonanztomographie (¹H-MRS) überprüft und validiert werden.

1.1 Definition der Fettleber

1.1.1 Histologische und MRS-basierte Definition der Fettleber

Bisher gilt die Leberbiopsie als Goldstandard der diagnostischen Abklärung der NAFLD.

Bei den Fetten, die in das Zytoplasma der Hepatozyten eingelagert werden, handelt es sich vor allem um Triglyzeride [10].

In den letzten Jahren rücken die MRT und die MRS immer mehr ins Interesse der Leberdiagnostik. Der Vorteil der MRT ist, dass es sich im Gegensatz zum bisherigen Goldstandard, der Leberbiopsie, um eine nicht-invasive Diagnosemethode handelt. Zudem kann mittels MRT das gesamte Leberparenchym beurteilt werden und nicht nur wie in der Biopsie ein verhältnismäßig kleines Biopsat [7]. Der Nachteil ist, dass MRS und MRT zwischen NAFL und NASH nicht unterscheiden können.

Im Rahmen der Dallas Heart Study (DHS) wurde vor einigen Jahren mithilfe der ¹H-MRS ein Triglyzeridgehalt von 5,56% des Lebervolumens als Grenzwert für die Diagnose einer Steatosis hepatis festgelegt, was einem Triglyzeridgehalt von 55,6 mg/g Leberparenchym entspricht [11].

Der Wert von 5,56% entspricht der 95. Perzentile des HCL von gesunden Personen, wobei im Rahmen der DHS normalgewichtige Personen mit geringem Alkoholkonsum, normalen laborchemischen Leberparametern und ohne bekannten Diabetes mellitus oder eine bekannte Lebererkrankung als gesund eingestuft wurden [11].

1.2 Ätiologie der Fettlebererkrankung

Der Leberschädigung durch Fetteinlagerungen können verschiedene Ursachen zugrunde liegen. Die Hauptauslöser sind eine erhöhte Lipidbelastung der Leber, oft assoziiert mit einem metabolischen Syndrom, einem dauerhaft gesteigerten Alkoholkonsum sowie einer Inkorporation hepatotoxischer Substanzen [12].

Wichtig ist vor allem zwischen einer alkoholtoxischen und nicht-alkoholischen Schädigung zu unterscheiden. Genau wie die Entstehung der NAFLD ist auch die Entstehung der alkoholischen Fettlebererkrankung noch nicht vollständig geklärt.

Nach aktuellem Kenntnisstand wird aufgenommenes Ethanol in der Leber mittels Alkoholdehydrogenase (ADH) zunächst zu Azetaldehyd und danach zu Azetat abgebaut. In beiden Prozessen entsteht Nikotinamidadenindinukleotid (NADH) [13]. Neben Azetaldehyd führt auch NADH über die Hemmung des peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR- α) zu einer verminderten Oxidation von FFA und über die Hochregulierung des sterol regulatory element-binding protein-1c (SREBP-1c) zu einer Stimulation der Fettsäuresynthese und so zur Entstehung einer Steatosis hepatis [14]. Neben dieser direkten Schädigung des Leberparenchyms durch Alkohol führt bei starken Alkoholikern auch die Malnutrition (Folsäure- und Thiaminmangel) durch Malabsorption zu einer Leberschädigung [15; 16].

Ausschlaggebend für die Differenzierung zwischen AFLD und NAFLD ist der tägliche Alkoholkonsum des Patienten. Ein häufig verwendeter Grenzwert für die NAFLD ist ein maximaler Konsum von 20 g Alkohol pro Tag für Frauen und 20-40 g Alkohol pro Tag für Männer [17; 18]. Diese Grenzwerte beziehen sich auf die Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für eine *low risk alcohol (LRA) consumption*, also einen Alkoholkonsum mit niedrigem Gefährdungspotenzial [19] und die aktuellen Leitlinien der European Association for the Study of the Liver (EASL), European Association for the Study of Diabetes (EASD) und European Association for the Study of Obesity (EASO) [12]. Folglich spricht man beim Vorliegen einer Leberverfettung bei einem höheren täglichen Alkoholkonsum von einer AFLD. Die Differenzierung zwischen AFLD und NAFLD erfolgt meist eigen- oder fremdanamnestisch. In unklaren Fällen kann zusätzlich das MCV (mittleres korpuskuläres Volumen der Erythrozyten) oder das CDT (*Carbohydrate-Deficient-Transferrin*) bestimmt und zur Unterscheidung zwischen AFLD und NAFLD herangezogen werden [20; 21].

Darüber hinaus müssen mögliche Ursachen für eine sekundäre Steatosis hepatis ausgeschlossen werden. Hauptursachen einer sekundären Leberverfettung sind genetische und metabolische Faktoren, die Einnahme bestimmter Medikamente sowie verschiedene Erkrankungen (s. Tabelle 1) [22].

Genetische/metabolische Erkrankungen	Hämochromatose Morbus Wilson
Medikamente	Systemische Kortikosteroidtherapie NSAID Kalziumantagonisten Amiodarone Tamoxifen Methotrexat Antiretrovirale Therapie (HAART)
Weitere	Umwelttoxine (Grüner Knollenblätterpilz, Petrochemikalien, Phosphorvergiftung) Schwangerschaft Neoplastische Erkrankungen Polyzystisches Ovar Parenterale Ernährung Infektionen (Hepatitis B & C)

Tabelle 1: Sekundäre Ursachen für eine NAFLD (Auswahl der Häufigsten) [1]

1.3 Risikofaktoren für die Entstehung einer NAFLD

Die NAFLD ist häufig assoziiert mit Übergewicht, vor allem viszeral betonter Adipositas, T2DM, Insulinresistenz sowie mit einer Dyslipidämie [23; 24]. All die genannten Risikofaktoren sind Komponenten des sogenannten „metabolischen Syndroms“, weshalb die Steatosis hepatis vielfach auch als hepatische Komponente des metabolischen Syndroms betrachtet wird [25]. Ursächlich für das metabolische Syndrom sind permanente Überernährung sowie Bewegungsmangel [26]. Besonders in den Industrienationen verbreitet sich dieser Symptomkomplex zunehmend.

Das metabolische Syndrom liegt nach Definition der International Diabetes Foundation (IDF) bei einer viszeralen Adipositas sowie beim Vorhandensein von mindestens zwei weiteren definierten Kriterien vor [27]. Für die Definition der viszeralen Adipositas gelten ethnienabhängige Grenzwerte. Für Europäer liegen diese Grenzwerte bei einem Taillenumfang von mehr als 80 cm bei Frauen und bei mehr als 94 cm bei Männern [28].

Zu den weiteren Kriterien des metabolischen Syndroms zählen [27]:

- Triglyzeride > 150 mg/dl
- HDL-Cholesterin < 40 mg/dl bei Frauen bzw. < 50 mg/dl bei Männern
- Bluthochdruck (systolisch > 130 mmHg und/oder diastolisch > 85 mmHg)
- Gestörte Nüchtern glukose (Impaired Fasting Glucose; Plasmaglukosewert von 100 bis 125 mg/dl (5,6 – 7,0 mmol/l)) oder
Gestörte Glukosetoleranz (Impaired Glucose Tolerance; Plasmaglukosewert von 140-200 mg/dl (7,8 - 11,1 mmol/l) in der 2 Stunden Messung im Rahmen des OGTT) oder ein bereits diagnostizierter T2DM.

Die Prävalenz des metabolischen Syndroms in der Gesamtbevölkerung der USA lag in den Jahren 2003-2012 annähernd bei 33% [29]. Zur Abschätzung der Prävalenz des metabolischen Syndroms in der deutschen Bevölkerung dienen die Resultate der Study of Health in Pomerania (SHIP) [30]. In der Region Vorpommern ergab sich im Rahmen dieser Studie eine Prävalenz des metabolischen Syndroms von 23,8% [31].

Die Prävalenz des metabolischen Syndroms bei Personen mit einer Fettlebererkrankung ist deutlich höher. So weisen 67% der Personen mit einer Steatose und 88% der Personen mit einer NASH ein metabolisches Syndrom auf [25]. Auch Bluthochdruck, insbesondere die systolische Hypertonie, stellt einen Risikofaktor für die NAFLD dar [24].

Zu den unabhängigen Risikofaktoren für die Entstehung einer NAFLD zählen T2DM und die viszerale Adipositas. Zwischen dem Grad des Übergewichts und der Schwere der NAFLD besteht eine direkte Korrelation [23]. So liegt die Prävalenz der NAFLD bei übergewichtigen Erwachsenen mit einem BMI zwischen 30,0 und 39,9 kg/m² bei 65% und bei Personen mit einem BMI \geq 40 kg/m² schon bei 85% [32].

Wie einleitend bereits erwähnt, stellt der Diabetes mellitus einen Risikofaktor zur Entstehung der NAFLD dar. Diabetes mellitus ist definiert als eine durch den Leitbefund der chronischen Hyperglykämie charakterisierte Regulationsstörung des Stoffwechsels. Dem Diabetes mellitus liegt eine gestörte Insulinsekretion, eine verminderte periphere Insulinwirkung oder eine Kombination aus beidem zugrunde [33]. Nach einer übereinstimmenden Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO), der American Diabetes Association (ADA) und der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) werden die Diabetesformen in vier Typen eingeteilt [34; 35]:

1. Typ 1 Diabetes

Der Typ 1 Diabetes ist meist immunologisch bedingt. Durch eine β -Zellzerstörung kommt es zu einem absoluten Insulinmangel [36].

2. Typ 2 Diabetes

Der Typ 2 Diabetes (T2DM) ist mit einem Anteil von 90-95% die häufigste Diabetesform in Deutschland mit steigender Prävalenz und Inzidenz [37–39]. In der Pathogenese des T2DM spielen mehrere Einflussfaktoren eine Rolle. Neben genetischen Faktoren und Umweltfaktoren (Alter, Adipositas, Ernährung, körperliche Aktivität) sind dies vor allem eine Insulinsekretionsstörung und die Insulinresistenz [40; 41]. Allgemein wird als Insulinresistenz eine verminderte beziehungsweise aufgehobene Wirkung des Insulins in den peripheren Geweben (Muskel, Leber, Fettgewebe) bezeichnet [42]. Durch eine postprandiale Erhöhung des Blutglukosespiegels kommt es im Normalfall zu einer Insulinausschüttung aus den β -Zellen in den Langerhans'schen Inseln des Pankreas. Mithilfe des Insulins wird die Glukoseaufnahme in die peripheren Körperzellen gesteigert und der Blutglukosespiegel infolgedessen wieder abgesenkt. Die Insulinsekretionsstörung bei Diabetikern betrifft vor allem die frühe postprandiale, blutglukoseabhängige Phase der Insulinsekretion, welche unmittelbar nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit auftritt [43]. Durch eine verminderte oder fehlende frühe Phase der Insulinsekretion kommt es zu einer postprandialen Hyperglykämie. In vielen Fällen ist eine periphere Insulinresistenz schon Jahre vor der Manifestation nachweisbar. Die Insulinresistenz in den peripheren Zielgebieten des Insulins (Muskel, Leber, Fettgewebe) kann zu Beginn oft noch durch eine vermehrte Insulinproduktion in den β -Zellen kompensiert werden. Erst wenn diese gesteigerte Insulinproduktion von den β -Zellen nicht mehr aufrechterhalten werden kann, kommt es zu einer Manifestation des Diabetes mellitus [44]. Patienten mit einem T2DM weisen unterschiedliche Grade der Insulinresistenz und des Insulinmangels auf. Die Mechanismen die zur Entstehung der Insulinresistenz führen sind komplex, neben einer genetischen Disposition beruhen sie auf strukturellen und funktionellen Defekten der Insulinrezeptoren, einer verminderten Bildung von Insulinrezeptoren sowie der Bildung von Autoantikörpern gegen Insulin [45].

3. Andere spezifische Diabetes-Typen

In dieser Klasse werden verschiedene Diabetesformen unterschiedlicher Genese subsummiert. Dazu zählen beispielsweise Erkrankungen des exokrinen Pankreas (z.B. Pankreatitis), Endokrinopathien (z.B. Cushing-Syndrom), medikamentös induzierte Diabetesformen (z.B. Kortisontherapie) oder auch genetische Defekte (MODY-Formen). Die meisten Formen des Typ 3 Diabetes sind durch eine Behebung der Grunderkrankung reversibel [46].

4. Gestationsdiabetes

Der Gestationsdiabetes ist definiert als eine Glukosetoleranzstörung, die erstmalig in der Schwangerschaft auftritt beziehungsweise diagnostiziert wird. Nach aktuellem Kenntnisstand entwickeln 35-60% der Frauen nach einem Gestationsdiabetes innerhalb von 10 Jahren eine Glukosetoleranzstörung [47].

Diabetes mellitus führt häufig zu schweren Komplikationen aufgrund einer Mikro-(diabetischen Nephropathie, Retinopathie) und Makroangiopathie (erhöhtes Risiko arteriosklerotischer Gefäßwandveränderungen) [48; 49].

Für die weitere Betrachtung der Risikofaktoren für eine NAFLD ist vor allem der T2DM von Interesse. In den letzten Jahrzehnten hat die Prävalenz des T2DM parallel zur steigenden Prävalenz der Adipositas stetig zugenommen [50]. Bei Patienten mit einem T2DM steigt die Prävalenz der NAFLD auf 69-87%, im Schnitt leiden so schätzungsweise 75% der Patienten mit T2DM an einer Steatosis hepatis [18; 5; 51]. Umgekehrt wurde in verschiedenen Studien festgestellt, dass die Fettleber selber einen unabhängigen Risikofaktor für die Entstehung eines T2DM darstellt. In einer koreanischen Kohorte konnte auch nach Angleichung von BMI, Triglyzeriden und HDL ein bedeutender Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Steatosis hepatis und der Manifestation eines T2DM belegt werden [51].

Verschieden Studien belegen, dass bei 50–90% aller Patienten mit einer Dyslipidämie eine NAFLD nachweisbar ist [5; 52].

Der Einfluss des Alters auf die Entstehung der NAFLD ist nicht zweifelsfrei geklärt. Einige Studien legen nahe, dass die NAFLD ihren Höhepunkt in den mittleren Altersabschnitten erreicht [53; 54].

Insgesamt gibt es keine eindeutigen Ergebnisse bezüglich des Einflusses des Geschlechts auf die Entstehung einer NAFLD. Möglicherweise haben eine unterschiedliche Körperfettverteilung, der Lebensstil oder auch ein unterschiedlicher Stoffwechsel von Sexualhormonen Einfluss auf etwaige geschlechtsspezifische Unterschiede hinsichtlich der Prävalenz der NAFLD [55]. Einigen Studien zufolge scheint eine höhere Prävalenz der NAFLD bei Männern vorzuliegen, vor allem in adipösen Kohorten, während bei schlanken Patienten der Einfluss des Geschlechts weniger ausgeprägt zu sein scheint [56].

1.4 Pathogenese der NAFLD

Zur Entstehung der NAFLD gibt es verschiedene Theorien. Von entscheidender Bedeutung für die Pathogenese ist neben Fett- und Kohlenhydratstoffwechselstörungen vor allem die Insulinresistenz [3].

Die Leber ist Regulationseinheit für den Nährstoffmetabolismus. Nach einer Mahlzeit nimmt die gesunde Leber Glukose auf und bildet daraus Glykogen als Speicherform. Die endogene Glukoseproduktion wird währenddessen unterdrückt.

Im Zustand des Fastens produziert die Leber mittels Glykogenolyse und Glukoneogenese Glukose [57]. Diese Vorgänge sind beispielsweise bei T2DM gestört. Hier führen eine verminderte hepatische Glykogensynthese und die fehlende Suppression der endogenen Glukoseproduktion nach Einnahme von Mahlzeiten zu einer postprandialen Hyperglykämie. Die Glykogensynthese ist umgekehrt proportional zur HCL-Konzentration [57]. Bei Patienten mit einer NAFLD und einer gestörten Glukosetoleranz konnte durch die Gabe von Insulin eine gestörte Suppression der endogenen Glukoseproduktion festgestellt werden [58].

1.4.1 Fettüberschusshypothese

Im Normalfall sorgt das in den β -Zellen des Pankreas produzierte Insulin für einen Abtransport der freien Fettsäuren (FFA) aus dem Blut, indem es eine Aufnahme der FFA in die Adipozyten ermöglicht [57].

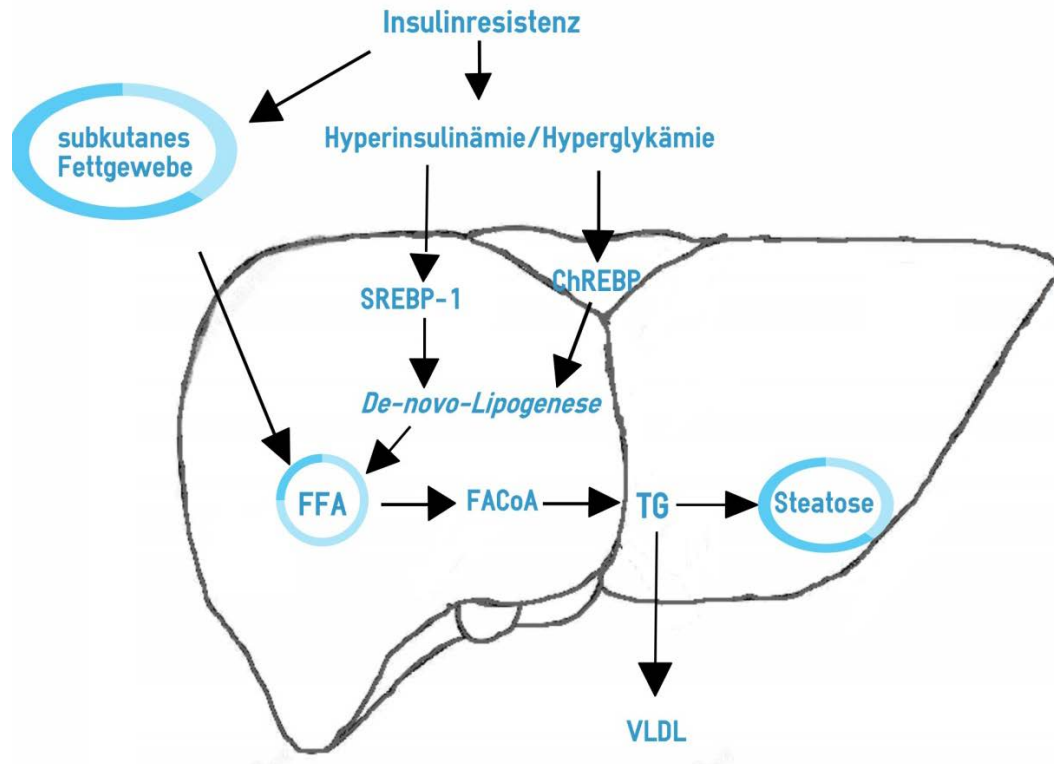


Abb. 1: Fettstoffwechsel der Leber im Rahmen der Steatosis hepatis (Modifiziert nach [57])

Abkürzungen: ChREBP = carbohydrate response element binding protein, FAcCoA= fatty acyl-Coenzyme A, FFA= freie Fettsäuren, SREBP-1= sterol regulatory element-binding protein 1, TG= Triglyzeride, VLDL = Very Low Density Lipoprotein

Darüber hinaus hemmt Insulin die hormonsensitive Lipase, vor allem im subkutanen Fettgewebe. Die hormonsensitive Lipase setzt durch Hydrolyse aus Triglyzeriden FFA frei, die in den Adipozyten gespeichert werden [59]. Durch die verringerte Insulinwirkung vermindert sich sowohl die Aufnahme von FFA ins Fettgewebe als auch die Hemmung der Lipolyse in den Adipozyten. Es fallen folglich immer mehr FFA im Blut an. Es gibt Hinweise darauf, dass die FFA direkt schädigend auf die Zellen einwirken, indem sie den oxidativen Stress erhöhen und so Entzündungsreaktionen provozieren [60].

Um diesen negativen Effekt der FFA zu verhindern, werden die FFA in die Leber aufgenommen, wo mit Hilfe des FAcCoA die Triglyzeridsynthese eingeleitet wird. Die gebildeten Triglyzeride werden in die Hepatozyten eingelagert. Es kommt zur Entstehung der Steatose. Weitere Triglyzeride gelangen aus Nahrungsfetten in die Zirkulation und werden bei bestehendem Triglyzeridüberschuss in die Leber eingelagert [3].

Normalerweise werden die nach einer Mahlzeit von der Leber aufgenommenen Fette zu 20-30% an Lipoproteine gebunden und wieder aus der Leber abtransportiert [3]. Die Anreicherung von Lipiden in der Leber ist bei adipösen Personen um das 3-fache erhöht, da

vermindert Lipoproteine, vor allem VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*), produziert werden. Die Leber schützt hier bei übermäßiger oraler Fettaufnahme die übrigen Organe vor den FFA, indem sie einen Großteil der Fette aufnimmt und speichert [3].

Liegt bereits eine Steatose vor, so wird die *De-novo*-Lipogenese der Leber durch Hyperinsulinämie und hohe Kohlenhydratkonzentrationen weiter gesteigert. Insulin bindet an das „*sterol regulatory element binding protein 1*“ (SREBP-1) und Glukose bindet an das „*carbohydrate response element binding protein*“ (ChREBP), wodurch die *De-novo*-Lipogenese verstärkt wird. Durch die Insulinresistenz steigen Glukose- und Insulinkonzentrationen im Plasma, was die Transkriptionsfaktoren SREBP-1 und ChREBP aktiviert, welche wiederum für eine Stimulation der *De-novo*-Lipogenese sorgen und zusätzlich die Fetteinlagerung in die Leber erhöhen.

Eine dauerhaft hochkalorische Ernährung führt zudem zu einer lokalen oder systemischen Entzündungsreaktion [61]. Insbesondere die Aufnahme fettreicher Mahlzeiten führt zu einer Erhöhung von Lipopolysacchariden [62]. Konsekutiv kommt es zu einer gesteigerten Ausschüttung der Entzündungsmediatoren IL-6 und TNF α , welche mit der Entstehung einer Insulinresistenz und eines T2DM assoziiert sind [63].

1.4.2 Adipozytokinhypothese

Die Adipozytokinhypothese besagt, dass eine Zunahme an Fettgewebe die Zytokinfreisetzung aus den Adipozyten verändert. Es kommt zu einem Ungleichgewicht, in welchem es zu einem Überschuss an proinflammatorischen, insulinresistenz-fördernden Zytokinen wie beispielsweise Tumornekrosefaktor (z.B.: TNF α) und Interleukinen (z.B. IL-6) sowie einer gleichzeitigen Konzentrationsabnahme von insulinsensitivitäts-steigernden Adipozytokinen (z.B. Adiponektin) kommt [64]. Der TNF steigert zudem die Freisetzung von FFA und IL-6 und hat über *suppressor of cytokine signaling* (SOCS)-Proteine direkten Einfluss auf die Insulinresistenz.

Adiponektin wirkt insulinsensitivierend und steht in negativer Korrelation zur hepatozellulären Lipidsynthese und -konzentration. Im Normalzustand bindet Adiponektin an den Adiponektin-1-Rezeptor und hemmt über die Adenosinmonophosphat(AMP)-Kinase sowohl die Glukoneogenese als auch die *De-novo*-Lipogenese und über Bindung an den Adiponektin-2-Rezeptor stimuliert es die Oxidation von FFA [57]. Abgesehen von der

Wirkung des Adiponektins wurden die Interaktionen zwischen weiteren Zytokinen und der Insulinsensitivität bisher nur am Tiermodell nachgewiesen [57].

1.4.3 Die Rolle der Mitochondrien in der Pathogenese der Fettleber

Die Mitochondrien dienen der Energieversorgung der Zellen, da sie im Rahmen der oxidativen Phosphorylierung Adenosintriphosphat (ATP) produzieren. Zur Bildung des ATP werden Substrate aus dem Fett- beziehungsweise Glukosestoffwechsel benötigt. Im Rahmen der Beta-Oxidation werden Fettsäuren und durch die Glykolyse Acetyl-CoA für den Zitratzyklus, in welchem ATP gebildet wird, bereitgestellt [65]. Insbesondere die Hepatozyten sind im Normalfall reich an Mitochondrien, da diese eine entscheidende Rolle bei der Oxidation der Fettsäuren spielen [66]. Eine Steigerung der mitochondrialen Fettsäureoxidation soll der Akkumulation von Fetten in der Leber entgegenwirken [67]. Bei einer vermehrten Aufnahme von freien Fettsäuren in der Leber werden diese in die Mitochondrien transportiert und dort über die Beta-Oxidation dem Zitratzyklus zugeführt. Auf diesem Wege kann der mitochondriale Umsatz verdoppelt werden [68]. In frühen Stadien der durch Übergewicht bedingten Insulinresistenz kann die Leber sich vorübergehend adaptieren, bei der NASH gehen diese Adaptionsmechanismen verloren, es kommt zu einer vermehrten Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) [69]. Zudem konnten Studien zeigen, dass der dauerhaft gesteigerte Metabolismus über IL-6 und TNF α zu einer Schädigung der Mitochondrien und der Hepatozyten selbst führt [70]. Bei adipösen Patienten und bei Patienten mit einem T2DM konnte infolgedessen festgestellt werden, dass sowohl die Zahl als auch die Größe der Mitochondrien verringert ist, was zu einer vergleichsweise geringeren Produktion von ATP führt [71].

1.5 Stadieneinteilung der NAFLD

Der Begriff der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung dient als Oberbegriff für verschiedene Stadien der Fettlebererkrankung. Diese reichen von der unkomplizierten Leberverfettung über die Steatohepatitis bis hin zur Leberzirrhose und zum hepatozellulären Karzinom [72].

Die Steatosis hepatis beschreibt die erste Stufe der Fettlebererkrankung. Hierbei handelt es sich um eine reine Leberverfettung ohne damit verbundene Entzündungen oder Fibrosierungen des Leberparenchyms [12]. Die Steatosis hepatis ist prinzipiell benigne, reversibel und verläuft meist nicht progredient [52]. Aufgrund der meist guten Prognose ist es fraglich, ob die reine Steatose als nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) deklariert werden sollte oder nur als nicht-alkoholische Fettleber (NAFL) [73].

In etwa 10-20% der Fälle entwickelt sich aus der einfachen Steatose eine nicht-alkoholisch Steatohepatitis (NASH). Die NASH ist die zweite Stufe der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung, in welcher es, neben der Verfettung der Hepatozyten, auch zu einer Entzündungsreaktion mit neutrophil-granulozytärem und lymphozytärem Infiltrat, sowie einer Leberzellschädigung durch Zellschwellung (hepatozelluläre Ballonierung) kommt. In den ballonierten Zellen sind häufig Mallory-Denk-Körper nachweisbar. Dabei handelt es sich um hepatische Zytoplasmaeinschlüsse, bestehend aus Zytokeratinen und Proteinen [74].

Der Aktivitätsgrad der NASH kann nach dem Brunt-Score oder dem NAFLD-Aktivitätsgrad weiter quantifiziert werden. Die beiden Scores berücksichtigen dabei Steatose (in Prozent der Fetteinlagerung in Hepatozyten), Ballonierung und Inflammation [75].

Die NASH entwickelt sich in geschätzten 1-5% der Fälle zu einer Zirrhose weiter [3]. Die mikronoduläre Leberzirrhose („Fettzirrhose“) ist das letzte und schwerste Stadium der Fettlebererkrankungen. Hier erfolgt eine Zerstörung der hepatischen Läppchen- und Gefäßstruktur und es entsteht eine entzündliche Fibrose [1].

Das Vorliegen einer Fettzirrhose stellt einen erheblichen Risikofaktor für die Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) dar. In den USA ist die NAFLD bereits eine der häufigsten Ursachen des HCC [76].

Die histologische Diagnostik der Fettlebererkrankung erfolgt auf Basis einer Leberbiopsie. Da die strukturellen diagnostischen Kriterien der NAFLD in der Leber ungleichmäßig verteilt sein können, kann es bei der Leberbiopsie zu einem Stichprobenfehler (*sampling error*) kommen [77].

Für die folgende Arbeit ist vor allem die erste Stufe der NAFLD, die Steatosis hepatis von Belang.

1.6 Epidemiologie

Die Prävalenz der NAFLD hat in der Gesamtbevölkerung in den letzten Jahren zugenommen. Eine auf 85 Studien aus den Jahren 1990-2015 basierende Metaanalyse ermittelte eine weltweite Prävalenz der NAFLD von 25% [78].

Region	Prävalenz (%)
Afrika	13,48
Asien	27,37
Europa	23,71
Mittlerer Osten	31,79
Nord Amerika	24,13
Süd Amerika	30,45

Tabelle 2: Prävalenz der NAFLD nach Region (basierend auf [78])

In Nordamerika und Europa konnte über die letzte Jahre eine ähnliche Prävalenz der NAFLD ermittelt werden, welche je nach Studie bei etwa 20-30% liegt [18; 52]. Insbesondere in Asien wurde in den vergangenen drei Jahrzehnten eine steigende Prävalenz der NAFLD beobachtet, welche aktuell zwischen 15 und 45% liegt [67].

Die erwähnten regionalen Ungleichheiten deuten darauf hin, dass die Prävalenz der NAFLD durch genetische Unterschiede, Variationen im Lipidmetabolismus und die Körperfettverteilung beeinflusst werden [55]. So zeigen Studien, dass insgesamt bei Hispanoamerikanern ein deutlich höheres Risiko als bei allen anderen ethnischen Gruppen in den USA für die Entstehung einer NAFLD besteht, jedoch große Unterschiede zwischen verschiedenen Herkunftsregionen innerhalb Lateinamerikas zu verzeichnen sind [79; 80].

Die Variabilität der Prävalenz der NAFLD ist neben der Ethnizität auch abhängig von der diagnostischen Modalität, die der Untersuchung zugrunde liegt. In zwei Studien basierend auf histologischen Untersuchungen von Leberspenden wurde eine Prävalenz von 20-51% ermittelt [81; 82]. Dient die Sonografie als Methode der Wahl zur Diagnostik, konnten in verschiedenen Studien Prävalenzen zwischen 17 und 46% ermittelt werden [83]. Vor allem geringe Steatosegrade werden hier häufig nicht erkannt. In den USA ergab eine Studie, basierend auf MRT-Untersuchungen, eine Prävalenz der NAFLD von 31% in der Allgemeinbevölkerung [83].

Für die NASH konnte eine weltweite Prävalenz von 2-5% ermittelt werden [52; 83].

Die NAFLD geht mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen einher. Lange ging man davon aus, dass die hohe Prävalenz an kardiovaskulären Erkrankungen unter NAFLD-Patienten durch gemeinsame Risikofaktoren im Rahmen des metabolischen Syndroms bedingt ist. Die NAFLD konnte in Studien jedoch auch als unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen identifiziert werden. In einer amerikanischen Studie ergab sich eine 1,2-fach erhöhte Wahrscheinlichkeit für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen beim Vorliegen einer NAFLD [84]. In einer Langzeitstudie stellten sich kardiovaskuläre Erkrankungen als häufigste Todesursache unter US-amerikanischen NAFLD-Patienten heraus [7; 85]. Es wird angenommen, dass durch die im Rahmen der Steatose entstehende Dyslipidämie arteriosklerotische Veränderungen der Blutgefäße begünstigt werden [86; 87].

Aufgrund einer erhöhten Inanspruchnahme von Gesundheitsleitung und daraus resultierenden Kosten wirkt sich die steigende Prävalenz der NAFLD ungünstig auf das Gesundheitssystem aus. Basierend auf den Daten der in Deutschland durchgeführten Study of Health in Pomerania (SHIP) konnten deutlich erhöhte Kosten für Patienten mit NAFLD im Vergleich zu lebergesunden Patienten ermittelt werden. Die gesteigerten Kosten gegenüber Patienten ohne NAFLD entstehen unter anderem auch durch die Untersuchung und Therapie von assoziierten Erkrankungen, wie beispielsweise T2DM und kardiovaskulären Erkrankungen [88]. Durch die steigende Prävalenz der NAFLD ist mit dadurch bedingten steigenden Kosten für das deutsche Gesundheitssystem sowie für die Gesundheitssysteme weltweit zu rechnen.

1.7 Klinik der NAFLD

Die Steatosis hepatis ist vielfach asymptomatisch und fällt oft zufällig durch erhöhte Transaminasenwerte auf [89]. Insbesondere nicht erklärbar erhöhte ALT-Werte (Alanin-Amino-Transferase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, GPT) sind hier von Interesse [90]. In 42-90% liegt einer asymptomatischen Amino-Transferaseerhöhung eine NAFLD zugrunde [89]. Die DHS und die Dionysos Study zeigten allerdings, dass die Leberenzyme keine verlässlichen Steatosemarker sind, da 55-79% aller NAFLD-Patienten normale Leberenzyme aufwiesen [52].

Kommt es zu einer Ausbildung von Symptomen sind diese meist unspezifisch und äußern sich in Form von Müdigkeit oder auch durch diffuse Schmerzen im rechten Oberbauch,

bedingt durch eine Hepatomegalie [91]. Zwischen der Schwere der Symptome und dem Ausmaß der Steatose scheint keine Korrelation zu bestehen [52]. Erst eine schwerere Leberschädigung im Rahmen einer NASH oder Leberzirrhose äußert sich in spezifischeren Symptomen wie Juckreiz, Übelkeit oder Aszites [90]. Beim Vorliegen einer NASH weisen etwa 50% der Patienten erhöhte Serum-Ferritin-Werte auf [52; 92].

1.8 Lebensstilveränderung als Therapie der NAFLD

Die NAFLD tritt häufig bei übermäßiger Nahrungsaufnahme und zu geringer körperlicher Aktivität auf. Die Therapie der NAFLD besteht daher in erster Linie aus einer Umstellung der Ernährungsgewohnheiten und des Lebensstils. Ebenso wie zwischen Gewichtszunahme und Inzidenz der NAFLD konnte auch zwischen Gewichtsreduktion und Rückbildung der Steatose eine positive Korrelation ermittelt werden [93].

Als wirksam hat sich neben einer Gewichtsreduktion auch eine Erhöhung der körperlichen Aktivität erwiesen [5]. Durch eine Steigerung der körperlichen Aktivität konnte in Studien sowohl ein Rückgang der Steatose als auch eine histologisch gesicherte Verringerung der Inflammation erwirkt werden [93].

Für eine Besserung des Steatosegrades scheint schon eine Gewichtsreduktion von 3-5% auszureichen, während für einen Rückgang der Inflammation eine Gewichtsabnahme von mindestens 9% erforderlich zu sein scheint. Eine medikamentöse Therapie der Steatosis hepatis oder der Fibrosierung konnte bislang nicht etabliert werden [5; 93].

1.9 Diagnose der Fettleber

Zur Diagnose einer Fettleber können verschiedene invasive und nicht-invasive Untersuchungsmethoden herangezogen werden.

1.9.1 Leberbiopsie und histopathologische Untersuchung

Eine histopathologische Untersuchung kann an Lebergewebe, welches durch eine Biopsie intraoperativ oder auch post mortem entnommen wurde, durchgeführt werden. Das Präparat wird mit Hämatoxylin-Eosin-Färbung eingefärbt.

Lichtmikroskopisch kann eine Fetteinlagerung bei einem Lipidgehalt von $> 3\%$ des Leberparenchyms nachgewiesen werden [1].

Steatosegrad	Betroffene Leberparenchymfläche
Geringgradig/ mild	$< 33\%$
Mittelgradig/ mäßig	33-66%
Hochgradig/ schwer	$> 66\%$

Tabelle 3: Steatosegrade nach konsensbasierten Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (Stand Januar 2015) [1]

Je nach Prozentsatz der von der Verfettung betroffenen Parenchymfläche erfolgt die Unterteilung in die in Tabelle 3 dargelegten Steatosegrade. Die Steatose wird histologisch weiter unterteilt in eine mikrovesikuläre Form, eine makrovesikuläre Form sowie in eine Mischform. Die Ablagerung der Triglyzeride beginnt meist perivenulär also läppchenzentral [1]. Darüber hinaus kann histopathologisch zwischen einer einfachen Steatose und einer NASH unterschieden werden [6]. Dennoch kann das Ergebnis der Biopsie stark verfälscht sein, da nur ein beziehungsweise mehrere Biopsiezylinder analysiert werden, welche möglicherweise nicht aussagekräftig für die Beschaffenheit des gesamten Leberparenchyms sind. Dieses Gewebestück kann gegebenenfalls nicht repräsentativ für das gesamte Lebergewebe sein, wodurch es zu einem Stichprobenfehler (*sampling error*) kommen kann [77]. Die Leberbiopsie wird heute meist perkutan und unter Sonographiekontrolle durchgeführt. Sie gilt als einfach durchführbar, kostengünstig und relativ sicher [94].

Dennoch muss mit Komplikationen gerechnet werden. Mit schwereren Komplikationen ist in etwa 1% der Fälle zu rechnen, die Letalität der Leberbiopsie liegt bei unter 0,1%. Zu den bedeutendsten Komplikationen zählen Schmerzen, über die etwa 84% der Patienten klagen. Ferner kann es zu Nachblutungen, Infektionen sowie einer Verletzung des Gallensystems oder anderer benachbarter Organe wie Zwerchfell, Lunge oder Niere kommen [95].

Als absolute Kontraindikation für eine Leberbiopsie gelten schwere Gerinnungsstörungen, Infektionen des Leberbetts, ein extrahepatischer biliärer Verschluss und ein unkooperativer Patient [95].

Da mikroskopisch, wie bereits im Rahmen der Definition der Steatosis hepatis erläutert, eine eindeutige Aussage über den Grad der NAFLD getroffen werden kann, gilt die histopathologische Untersuchung eines Biopsats weiterhin als Referenzstandard [1].

1.9.2 Bildgebende Diagnosemöglichkeiten

Der große Vorteil der Bildgebung gegenüber der Biopsie ist die nicht-invasive Durchführung. Unter anderem deswegen ist die Bildgebung im Gegensatz zur Biopsie zur Verlaufsdagnostik geeignet. Ferner kann mittels Bildgebung meist die gesamte Leber beurteilt werden und nicht nur ein kleiner Ausschnitt. Die Gefahr des Stichprobenfehlers wird so reduziert. Mittels Bildgebung kann sowohl eine quantitative als auch qualitative Beurteilung der NAFLD erfolgen [6].

Es gibt verschiedene nicht-invasive Methoden zur Identifizierung und Quantifizierung der Steatosis hepatis, welche im Folgenden genauer erläutert werden.

Untersuchungsmethode	Vorteile	Nachteile
Sonografie	Kostengünstig, einfach zugänglich, keine Strahlenbelastung für den Patienten	Steatosis hepatis erst ab einer Fetteinlagerung von mehr als 30% sicher identifizierbar, material- und untersucherabhängig, abhängig von der Konstitution des Patienten
CT	schnell, kostengünstig, einfach zugänglich	hohe Strahlenbelastung für den Patienten
MRT	sehr genaue Beurteilung des gesamten Leberparenchyms, keine Strahlenbelastung für den Patienten	kostenintensiv, zeitaufwendig, Kontraindikationen (Metallimplantate, metallische Fremdkörper und Klaustrophobie)
MRS	quantitative Beurteilung der Steatose, in der Aussagekraft der Biopsie gleichzusetzten, keine Strahlenbelastung für den Patienten	kostenintensiv, zeitaufwändig, Kontraindikationen (s. MRT), nur kleine Volumenelemente der Leber werden analysiert (sampling error)

Tabelle 4: Vor- und Nachteile verschiedener Untersuchungsmodalitäten

1.9.2.1 Sonografie

Die Sonografie wird vielfach als Screeningmethode für die NAFLD eingesetzt. Sie ist eine einfache, günstige und vielfach zugängliche Bildgebungsmethode, die ohne ionisierende Strahlung auskommt.

Die Beurteilung des Lebergewebes in der Sonografie erfolgt durch den optischen Vergleich mit anderen Bauchorganen. Das normale Leberparenchym ist homogen und gleicht in seiner Echogenität dem Nierenrinden- und dem Milzparenchym [96]. Die Fettleber hingegen hat eine höhere Echogenität als Nierenrinden- und Milzparenchym, die Leber erscheint in diesem Falle heller. Zudem sind sonografisch in einer Fettleber die Lebergefäße schlechter darstellbar [6].

Die Sonografie erlaubt folglich nur eine grobe Einstufung der Leberverfettung je nach Echogenität und Darstellbarkeit der Lebergefäße und liefert meist nur qualitative Aussagen über die NAFLD. Nachteilig an der Sonografie ist, dass sie viele Störfaktoren beinhaltet, so ist sie material- und untersucherabhängig und auch die Konstitution des Patienten kann die Beurteilbarkeit des Lebergewebes stark herabsetzen. Die Sonografie ist gut geeignet als Eingangsuntersuchung und ist umso zuverlässiger, je größer der Grad der Verfettung ist. Zur genaueren Beurteilung und Differenzierung des Leberparenchyms müssen aber andere Diagnosemöglichkeiten herangezogen werden. Eine Quantifizierung des Leberfettgehalts kann unter klinischen Bedingungen meist nicht erfolgen [6; 96]. Insgesamt eignet sich diese Methode eher für die Detektion einer höhergradigen als einer milden Steatose.

1.9.2.2 Native Computertomografie

Die native CT eignet sich sehr gut zur Bestimmung des Leberfettgehaltes. Eine subjektive Beurteilung der Leberverfettung kann, ähnlich wie in der Sonografie, durch einen Vergleich zwischen Leber- und Milzparenchym erfolgen [97]. Die Milz bleibt von vielen pathologischen Prozessen unbeeinflusst und darüber hinaus liegen Leber und Milz in der Schnittebene, was einen direkten Parenchymvergleich erleichtert. Eine normale Leber weist eine höhere Dämpfung als die Milz auf. Ist die Dämpfung der Leber geringer als die der Milz, deutet dies auf eine Steatose hin. Die Dämpfungsmessung erfolgt in Hounsfield Einheiten (HU). Das normale Leberparenchym liegt bei 50-65 HU, während eine Fettleber weniger als 48 HU aufweist. Aufgrund des größeren Volumens erfolgt die Messung meist im rechten Leberlappen [98].

Eine noch genauere Messung kann über die Platzierung einer *region of interest* (ROI) und einer Dämpfungsmessung in diesem Bereich erfolgen. Wenn möglich sollte die Messung von mindestens 2 ROI im rechten und linken Leberlappen erfolgen und diese ROI sollte frei von Gefäßen sein.

Viele Studien haben der nativen Computertomografie eine hohe Sensitivität und Spezifität in Bezug auf die Detektion einer Steatose bescheinigt. Nachteilig ist, dass die CT-Untersuchung mit einer hohen Strahlenbelastung für den Patienten verbunden ist [96].

1.9.2.3 Konventionelle Magnetresonanztomografie

Die Magnetresonanztomografie eignet sich sehr gut zur Untersuchung der Fettleber.

Im konventionellen MRT-Schnittbild wird die Leberverfettung in T1-gewichteten Sequenzen durch eine erhöhte hepatische Signaldichte deutlich [99]. Die *chemical shift gradient-echo* (GRE) Sequenz ist am besten geeignet eine Steatosis hepatis nachzuweisen [100]. Im Gegensatz zur normalen Leber kommt es bei der Fettleber zu einer verminderten Signalintensität in der *opposed-phase* im Vergleich zur *in-phase*. In der gesunden Leber weist das Leberparenchym in der *opposed-phase* und in der *in-phase* eine etwa gleiche Signalintensität auf [96].

Als weiteres MRT-Protokoll zur Fettgewebsanalyse hat sich die sogenannte Dixon-Sequenz etabliert, die unter Ausnutzung der unterschiedlichen Resonanzfrequenzen von Wasser- und Fettprotonen Fett und Wasser separiert und so ermöglicht eine normale Leber von einer Fettleber zu differenzieren und den Leberfettgehalt zu quantifizieren [101].

1.9.2.4 Magnetresonanzspektroskopie (MRS)

Die MRS ist eine sehr komplexe aber auch äußerst sensitive Diagnosemethode für eine Steatosis hepatis. Im MRS werden ein oder mehrere Volumenelemente, die sogenannten Voxel, im Lebergewebe platziert. Diese Voxel geben Auskunft über die chemische Zusammensetzung des Gewebes [6; 11]. Auf diesem Wege können schon kleinste Mengen Fett detektiert werden und eine Aussage über den absoluten Leberfettgehalt getroffen werden. Die MRS dient der exakten quantitativen, aber weniger der qualitativen Beurteilung der Steatose.

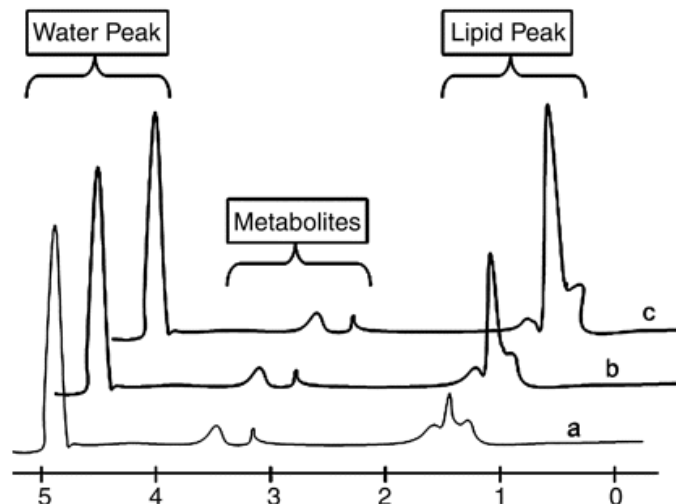


Abb. 2: Darstellung von normalem Leberparenchym sowie verschiedener Stadien der Steatosis hepatis in der MRS

- a) Normales Leberspektrum
- b) erhöhte Fettwerte = milde Steatose
- c) schwere Steatose

Water Peak=Wasser-Gipfel, Lipid Peak = Lipid-Gipfel, Metabolites = Stoffwechselprodukte

Die MRS wurde bisher nur selektiv, vor allem im Rahmen von Studien zur Fettleberdiagnostik verwendet und ist bisher keine alltägliche klinische Diagnosemöglichkeit, da die Durchführung sehr aufwändig und teuer ist.

Szczepaniak et al. belegten, dass die Ergebnisse der MRS mit den histopathologischen Ergebnissen aus bioptisch entnommenen Proben übereinstimmen. Die Ergebnisse der MRS sind gut reproduzierbar und zudem unabhängig von der Nahrungsaufnahme [11]. Dies zeigt, dass die MRS eine sehr zuverlässige, nicht-invasive Alternative zur Biopsie in der Fettleberdiagnostik darstellt.

In den von Szczepaniak et al. durchgeführten Messungen wurde eine hepatozelluläre Triglyzeridkonzentration von mehr als 5,56% als beweisend für eine Fettleber angesehen. Dies entspricht der 95. Perzentile der HCL bei Personen ohne eine Steatosis hepatis [11]. Über die Diagnose der Steatose hinaus kann die MRS durch Glutamat-, Lipid- und Glycerinwerte zusätzliche Informationen über die Stadien einer NASH liefern [6].

1.9.3 Laborparameter und Indices zur nicht-invasiven Bestimmung einer Steatosis hepatis

Neben dem in dieser Arbeit thematisierten Fatty Liver Index (FLI), der in Kapitel 1.10. genauer erläutert wird, gibt es weitere Indices zur Detektion einer Steatosis hepatis, die in den ursprünglichen Validierungen eine überzeugende Performance zeigten.

Dazu zählen der SteatoTest, der Hepatic steatosis Index (HSI) und der NAFLD liver fat score (-LFS), der den prozentualen Leberfettgehalt berechnet.

- Der **SteatoTest** basiert auf neun biochemischen Markern (alpha2-Makroglobulin, Haptoglobin, Apolipoprotein A1, gesamt Bilirubin, GGT, nüchtern Glukosespiegel, Triglyzeride, Cholesterol und ALT). In der Diagnose einer Steatosis hepatis mit einem HCL zwischen 6% und 32% erreichte der SteatoTest eine Sensitivität von 91% (cut-off Wert 0,30) und eine Spezifität von 89% (cut-off Wert 0,70). Die Validierung erfolgte mittels Sonografie und Biopsie [102].
- Der **Hepatic steatosis Index (HSI)** wird mittels folgender Formel berechnet:

$$\text{HSI} = 8 \times \left(\frac{\text{ALT}}{\text{AST}} \right) + \text{BMI} (+2 \text{ für weibliche Probanden; } +2 \text{ bei T2DM})$$

Werte unter 30 beziehungsweise über 36 schließen eine NAFLD aus. In der ursprünglichen Validierung mittels Sonografie erreichte der Index eine Sensitivität von 93,1% und eine Spezifität von 92,4% [103].

- Der **NAFLD liver fat score (-LFS)** berechnet den prozentualen Leberfettgehalt mit folgender Formel:

$$\text{NAFLD-LFS (\%)} = 10^{(-0.805 + 0.252 * \text{Metabolisches Syndrom (ja=1/ nein=0)} + 0.078 * \text{T2DM (ja= 2/ nein=0)} + 0.525 * \log(\text{fs-insulin [mU/L]}) + 0.521 * \log(\text{fsAST[U/L]}) - 0.454 * \log(\text{AST/ALT}))}$$

In der ursprünglichen Validierung mittels ¹H-MRS erzielte er eine Sensitivität von 86% und eine Spezifität von 71% [104].

1.10 Fatty Liver Index

Bedogni et al. untersuchten im Zuge der Dionysos Nutrition & Liver Study, einer Fall-Kontroll-Studie, 496 norditalienische, hauptsächlich kaukasische Probanden, davon 216

mit Verdacht auf eine Fettlebererkrankung, um auslösende Faktoren für die Fettlebererkrankung zu identifizieren. Der Gruppe der Probanden mit Verdacht auf eine Lebererkrankung wurde eine Gruppe von Probanden ohne Verdacht auf eine Lebererkrankung gegenübergestellt. Personen mit einer bereits diagnostizierten Lebererkrankung wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Die Probanden im Alter zwischen 18 und 75 Jahren erhielten eine anthropometrische sowie eine Ultraschalluntersuchung und mussten über 7 Tage ihre Nahrungs- und Alkoholaufnahme dokumentieren.

Die Probanden mit einer Steatose hatten einen höheren BMI [29,5 (5,8) vs. 25,7 (4,1) kg*m⁻¹], einen größeren Taillenumfang [98 (16) vs. 86 (14) cm], höhere GGT Werte [31 (35) vs. 19 (14) U*L⁻¹], einen höheren Glukosespiegel [96 (18) vs. 89 (13) mg*dL⁻¹], einen höheren Insulinspiegel [9 (8) vs. 5(4) mU*L⁻¹] sowie einen höheren Triglyzeridspiegel [141 (102) vs. 91 (60) mg*dL⁻¹]. Ferner waren unter den Probanden mit einer diagnostizierten NAFLD deutlich mehr Männer als Frauen [164 M/64 F] als unter den Probanden ohne eine NAFLD [141 M/127 F] [8].

Aus ihren Ergebnissen entwickelten sie einen Algorithmus, den sogenannten Fatty Liver Index (FLI), welcher durch klinisch einfach zugängliche Parameter das Vorliegen einer Fettlebererkrankung vorhersagen soll. Diese Parameter sind Body-Mass-Index (BMI= $\frac{\text{Körpergewicht in kg}}{\text{Körpergröße in m}^2}$), die Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), der Triglyzeridspiegel (TG) und der Taillenumfang in cm.

$$FLI = \frac{(e^{0.953 \cdot \log_e(TG) + 0.139 \cdot BMI + 0.718 \cdot \log_e(GGT) + 0.053 \cdot \text{Taille} - 15.745})}{(1 + e^{0.953 \cdot \log_e(TG) + 0.139 \cdot BMI + 0.718 \cdot \log_e(GGT) + 0.053 \cdot \text{Taille} - 15.745})} \times 100$$

Der Zahlenwert des Index kann zwischen 0 und 100 liegen. Bedogni et al. legten fest, dass bei Werten < 30 eine Fettlebererkrankung ausgeschlossen werden kann und bei Werten ≥ 60 eine Fettlebererkrankung vorliegt. Zwischen Werten von 30 und 60 befindet sich eine Grauzone [8].

FLI Grenzwert	%	SN	SP	LR+	LR-
---------------	---	----	----	-----	-----

≥10	90	98	17	1.2	0.1
≥20	74	94	44	1.7	0.1
≥30	60	87	64	2.4	0.2
≥40	53	82	72	2.9	0.3
≥50	43	70	80	3.5	0.4
≥60	36	61	86	4.3	0.5
≥70	28	49	91	5.2	0.6
≥80	18	35	96	9.3	0.7
≥90	9	18	99	15.6	0.8

Tabelle 5: Diagnostische Genauigkeit des Fatty Liver Index nach Validierung mittels Sonografie durch Bedogni et al
(Modifiziert nach: [8])

Abkürzungen: FLI = Fatty Liver Index; % = Anzahl der Patienten mit FLI ≥ Grenzwert; SN = Sensitivität; SP = Spezifität; LR+ = *positive likelihood ratio*; LR- = *negative likelihood ratio*.

Der Fatty Liver Index erzielte in der Verifizierung mittels Sonografie eine Sensitivität von 87% und eine Spezifität von 86% [8].

1.11 Ziele dieser Arbeit

Da es sich bei der Sonografie um eine untersucherabhängige und nur bedingt geeignete Methode zu Diagnostik der NAFLD handelt, hat diese Arbeit folgende Ziele, um die Vorhersagekraft des FLI mittels der ¹H-MRS zu überprüfen:

- Um die Aussagekraft des FLI zu ermitteln werden Sensitivität und Spezifität bestimmt. Außerdem wird die *receiver operating characteristic curve* (ROC) berechnet, um die Nützlichkeit des Index zu bestimmen, indem anhand *der area under the receiver operating characteristic curve* (AROC) bewertet wird, wie gut der Index gesunde und kranke Individuen voneinander trennt.
- Darüber hinaus wollen wir versuchen, einen einzigen, optimalen Cut-Off-Wert für den FLI zu ermitteln, statt der von Bedogni et al. vorgeschlagenen „Grauzone“.
- Zudem werden wir die Korrelation zwischen dem FLI und verschiedenen Parametern der Insulinsekretion und –sensitivität (u.a. QUICKI, OGIS, Matsuda’s index) ermitteln, um zu überprüfen, ob der FLI zusätzlich zur Abschätzung von Insulinsekretion und –sensitivität dienen kann.

2 MATERIALIEN, METHODEN UND STUDIENKOLLEKTIV

2.1 Materialien

2.1.1 Verbrauchsmaterialien

2.1.1.1 Blutentnahme

Venenverweilkanüle (Vasofix® Safety, 22G (blau), Artikelnummer: 4268091S-01, 20G (pink), Artikelnummer: 4268113S-01, B. Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)

Venenverweilkanülenverschluss (Mandrin Vasofix®, 22G, Artikelnummer: 4215095, 20G, Artikelnummer: 4219104, B.Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)

Multiadapter (BD Vacutainer® Multisample Luer-Adapter, Artikelnummer: 367300, Becton Dickinson GmbH, 69126 Heidelberg, Deutschland)

Einmalhalter (BD Halter für die Blutentnahme mit BD Vacutainer® Röhrchen, Artikelnummer: 364815, Becton Dickinson GmbH, 69126 Heidelberg, Deutschland)

Einmalspritzen 2/5/10 ml (Injekt® REF 2 ml 2057895, REF 5 ml 2057903, REF 10ml 2057926, B. Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)

Einmalhandschuhe S/M/L (Vasco® Nitril light, REF 9207716/9207724/9207732, B.Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)

Pflaster für Venenverweilkanüle (Cosmopor®I.V. 8x6 cm, REF 9008054, Paul Hartmann AG, 89522 Heidenheim, Deutschland)

Pflaster (Leukosik®Pflaster 5x2,5 m, REF 0102200, BSN medical GmbH, 20253 Hamburg, Deutschland)

Zelluloseputzer (Zelletten®, REF 13356, Lohmann und Rauscher GmbH & CO. KG, 56567 Neuwied, Deutschland)

Desinfektionsmittel (Octenisept® 250 ml-Flasche mit Überkopfsprühpumpe, REF 173711, Schülke & Mayr GmbH, 22840 Norderstedt, Deutschland)

2.1.1.2 Abnehmeröhrchen

Serumröhrchen 2,5/ 8,5 ml (BD Vacutainer® SST™ II Advance Röhrchen REF 2,5 ml 66882, REF 8,5 ml 367953, Becton Dickinson GmbH, 69126 Heidelberg, Deutschland)

EDTA-Röhrchen 2/ 3 ml (BD Vacutainer® EDTA-Röhrchen REF 2 ml 368841, REF 3 ml 368856, Becton Dickinson GmbH, 69126 Heidelberg, Deutschland)

Glukoseröhrchen (Mikro-Probengefäß 1,3 ml, Fluorid Heparin/Glukose, gelb, Artikelnummer: 41.1505.015, Sarstedt AG & Co, 51588 Nümbrecht, Deutschland)

2.1.1.3 Oraler Glukosetoleranztest

Glukoselösung ACCU-CHEK® Dextrose O.G-T. (Roche Diagnostics GmbH, 42579 Heiligenhaus, Deutschland)

2.1.1.4 Probenverarbeitung

Pipette (Eppendorf Research® plus 100-1000 µl, Eppendorf AG, 22339 Hamburg, Deutschland)

Pipettenspitzen (ep T.I.P.S. Reloads 50-1000 µl, Artikelnummer: 0030 073.460, Eppendorf AG, 22339 Hamburg, Deutschland)

Blaue Röhrchen HA/1 x 5 (Probenröhrchen 1,5 ml, farblos, Artikelnummer: 710020, Biozym Scientific GmbH, 31840 Hessisch Oldendorf, Deutschland)

+ Schraubverschlüsse, grün mit Dichtring, Artikelnummer.: 710033, Biozym Scientific GmbH, 31840 Hessisch Oldendorf, Deutschland)

+ Schraubverschlüsse, blau mit Dichtring, Artikelnummer: 710032, Biozym Scientific GmbH, 31840 Hessisch Oldendorf, Deutschland)

Cryovials, 2 ml, freistehend, steril, Artikelnummer:710513, Biozym Scientific GmbH, 31840 Hessisch Oldendorf, Deutschland)

Deckelfarbe (Cap-insert, rot, Artikelnummer: 710531 Biozym Scientific GmbH, 31840 Hessisch Oldendorf, Deutschland)

Glasröhrchen UNI (Röhre 5 ml, 75 x 13 mm, PS, Artikelnummer: 55.475.001, Sarstedt AG & Co., 51588 Nümbrecht, Deutschland)

2.1.2 Geräte

Zentrifuge (Hettich Tischzentrifuge „Universal 320R“, 78532 Tuttlingen, Deutschland)

Messstation für Gewicht und Körpergröße (SECA 285, SECA AG, 4153 Reinach, Schweiz)

Blutdruckmessgerät (OMRON HEM 705IT, 68165 Mannheim, Deutschland)

Statistische Analyse (SAS for Windows Version 9.2 (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA).

2.1.2.1 MRT/MRS

MRT 3T Philips Achieva (Philips GmbH Market DACH, 20001 Hamburg, Deutschland)

¹H Spektrum: 16-channel phased-array Empfänger Spule (Philips GmbH Market DACH, 20001 Hamburg, Deutschland)

Spektrenanalyse (NUTS software package Acorn NMR Inc., Livermore, Kalifornien, USA)

Triglyzeride: Cobas[®] c Systeme TRIGL (Roche Diagnostics GmbH, 42579 Heiligenhaus, Deutschland)

Freie Fettsäuren: NEFA-HR(2) (Wako Chemicals GmbH, 41468 Neuss, Deutschland)

ALT, AST, GGT und das HDL-Cholesterol: Cobas MODULAR Analyzer (Roche Diagnostics GmbH, 42579 Heiligenhaus, Deutschland)

Insulin- und C-Peptidbestimmung: Chemiluminescence Immunoassay auf einem IMMULITE[®] 2000 (Global Siemens Healthcare Headquarters Siemens AG, 91052 Erlangen, Deutschland)

HbA1c: VARIANT™ II Hämoglobin-Analysesystem (Bio-Rad Laboratories GmbH, 80901 München, Deutschland)

Glukose: EPOS Analyzer 5060 (Eppendorf AG, 22339 Hamburg, Deutschland)

2.2 Methoden

2.2.1 Analysen in der Universitätsklinik Düsseldorf

Folgende Parameter wurden im Zentrallabor der Universitätsklinik Düsseldorf bestimmt: Kreatinin, Harnsäure, Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, GOT, GPT, Bilirubin gesamt, GGT, Kleines Blutbild, Ferritin.

Die Proben wurden im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und gesammelt und dann in einem Transportbehälter mit Kühlaggregaten in die Universitätsklinik Düsseldorf gebracht.

2.2.2 Messung der Insulinsensitivität

2.2.2.1 Qualitative Insulin Sensitivity Check Index (QUICKI)

Unter Fastenbedingungen wurde der quantitative insulin sensitivity check index berechnet (QUICKI), welcher als hinweisend für die hepatische Insulinsensitivität erachtet wird. Er wird mithilfe des 2 Stunden OGTT-Werts ermittelt.

Die Formel ergibt sich aus dem reziproken Logarithmus von nüchtern Glukosekonzentration (G_0) und nüchtern Insulinkonzentration (I_0) und lautet wie folgt [105]:

$$\text{QUICKI} = \frac{1}{[\log(I(0)) + \log(G(0))]}$$

2.2.2.2 Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS)

Der OGIS ist eine Methode, um aus den Ergebnissen des 2 oder 3 Stunden OGTT die Insulinsensitivität zu berechnen. Der OGS liefert ein mathematisches Modell, welches es ermöglicht, die Glukose-Clearance und auch die Ganzkörper-Insulinsensitivität zu berechnen [106].

Der OGIS korreliert mit dem M-Wert aus dem hyperinsulinämischen-euglykämischen Clamp-Test, dem Goldstandard zur Ermittlung der Insulinsensitivität [106].

2.2.2.3 Matsuda Index (ISI_{comp})

Der von Matsuda entwickelte Index (*composite insulin sensitivity index*) ist ein Maß für die Insulinresistenz. Dieser empirische Index wird mithilfe der durchschnittlichen Glukose (G_m)- und Insulinkonzentration (I_m) während des dynamischen Abschnitt des OGTT berechnet [107]. Die Formel lautet [108]:

$$ISI_{\text{comp}} = \frac{10000}{\sqrt{G_0 \times I_0 \times G_m \times I_m}}$$

2.2.2.4 Hepatische Insulinextraktion (Hep-Extr)

Die Fähigkeit der Leber, Insulin abzubauen, wurde im nüchternen Zustand anhand des Molverhältnisses von Insulin und C-Peptid wie folgt berechnet:

$$\text{Hep Extr} = \frac{I_0}{CP_0}$$

Im dynamischen Zustand wurde die hepatische Insulin Extraktion mit Hilfe der folgenden Formel abgeschätzt:

$$\text{Hep_Extr} = 1 - \left(\frac{AUC_{\text{Ins}}}{AUC_{\text{CP}}} \right)$$

2.2.3 Messung der Insulinsekretion

2.2.3.1 β -Zellfunktion

Die β -Zellfunktion wurde berechnet mit der Formel:

$$\beta\text{-Zell-Funktion} = \frac{I_0}{G_0}$$

wobei I_0 die nüchtern Insulin- und G_0 die nüchterne Glukosekonzentration beschreibt.

2.2.3.2 Insulinogenic Index (IGI_{ins} , $IGI_{ins-tot}$, IGI_{cp} , IGI_{cp-tot})

Unter postprandialen Bedingungen, also während des OGTT, erfolgte die Berechnung des Insulinogenic Index (IGI_{ins}) unter Zuhilfenahme der Glucose- und Insulinkonzentrationen, welche 30 Minuten nach Beginn des OGTT erhoben wurden. Diese werden als G_{30} und I_{30} bezeichnet.

Die Formel lautet [109]:

$$IGI_{ins} = \frac{(I_{30} - I_0)}{(G_{30} - G_0)}$$

Nachteilig an diesem Index ist, dass er nur die ersten 30 Minuten des OGTT berücksichtigt. Ein Bild über die Glucose- und Insulinverhaltensmuster während des gesamten OGTTs liefert der $IGI_{ins-tot}$, der wie folgt berechnet wird [109]:

$$IGI_{ins-tot} = \frac{\Delta AUC_{ins}}{\Delta AUC_{gluc}}$$

ΔAUC_{ins} und ΔAUC_{gluc} sind die suprabasalen *areas under the concentration curves* (AUC) für Insulin beziehungsweise für Glukose.

IGI_{ins} und $IGI_{ins-tot}$ spiegeln eher das Erscheinungsbild des Insulins im peripheren Kreislauf wider, nicht so sehr die β -Zellfunktion.

Um die Funktion der pankreatischen und β -Zellen darzustellen, eignen sich vielmehr Indices, die das C-Peptid mit einbeziehen. Zu diesen Indices zählt der IGI_{cp} .

Dieser Index berechnet sich nach der Formel:

$$IGI_{cp} = \frac{(CP_{30} - CP_0)}{(G_{30} - G_0)}$$

CP_0 und CP_{30} sind die C-Peptidkonzentrationen im nüchternen Zustand sowie 30 Minuten nach Beginn des OGTT.

Der IGI_{cp-tot} Index, der auf der Formel

$$IGI_{cp-tot} = \frac{\Delta AUC_{cp}}{\Delta AUC_{gluc}}$$

basiert, verwendet die suprabasale AUC des C-Peptids [109].

2.2.3.3 Disposition-Index (DI) und Adaptation-Index (AI)

Da die Beurteilung der β -Zellfunktion verlässlicher ist, wenn das Ausmaß der Insulinresistenz mit einbezogen wird, wurden zudem der Disposition-Index:

$$DI = OGIS \times IGI_{Ins-tot}$$

und der Adaptation-Index:

$$AI = OGIS \times IGI_{cp-tot}$$

berechnet. Diese Indices gleichen das Ausmaß der Insulinfreisetzung an den Grad der Insulinsensitivität an. Der Disposition-Index (DI) berechnet sich aus dem Produkt von Insulinsensitivität (OGIS) und der Funktion der posthepatischen Insulinfreisetzung ($IGI_{Ins-tot}$). Der Adaptation-Index (AI) stellt das Produkt aus Insulinsensitivität (OGIS) und β -Zellfunktion (IGI_{cp-tot}) dar [110].

2.2.4 Fatty Liver Index (FLI)

Der FLI wurde mittels logarithmischer Transformation ($\text{logit}(x) = \ln(x/1)$) verändert und durch 100 geteilt. Der Logit ist der Logarithmus eines Odds ($\frac{p}{1-p}$). Diese Transformation dient dazu, eine lineare Funktion zu erhalten, welche annähernd normalverteilt ist. Daraus ergibt sich folgende Formel:

$$FLI = 0,953 \cdot \ln(TG) + 0,139 \cdot BMI + 0,718 \cdot \ln(GGT) + 0,053 \cdot \text{Taille} - 15,745$$

Der Zahlenwert des FLI kann zwischen 0 und 100 liegen. Nach Bedogni et al. liegt bei Werten ≥ 60 eine Fettlebererkrankung vor und bei Werten < 30 kann eine Fettlebererkrankung ausgeschlossen werden [8].

2.2.5 Statistische Analysen

Statistische Auswertungen wurden mit dem Programm SAS Version 9.1 TS Level 1M3 (SAS Inc., Carey, USA) erstellt. Die klinische Datenbank wurde mit Hilfe von Microsoft Access 2003 (Microsoft, 33415 Verl, Deutschland) verwaltet. Die Darstellung der Daten erfolgt, soweit nicht gesondert gekennzeichnet, als Mittelwert \pm erste Standardabweichung.

chung. Logarithmiert wurden nicht normalverteilte Analyseergebnisse, um einer Normalverteilung am ehesten zu entsprechen. Regressionsanalysen wurden durchgeführt, damit Assoziationen losgelöst betrachtet werden konnten. Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant anerkannt. Zur Validierung des FLI wurde die *receiver operating characteristic curve* (ROC) berechnet. Diese wird benutzt, um die Aussagekraft eines Index zu berechnen, indem anhand *der area under the receiver operating characteristic curve* (AROC) bewertet wird, wie gut der Index gesunde und kranke Individuen voneinander trennt [111]. Die AROC kann Werte zwischen 0,5 und 1 annehmen. Je größer die Fläche, also je näher der AROC Wert an 1 heranreicht, desto zuverlässiger ist der Index.

Werte zwischen 0,9 und 1 definieren einen exzellenten Test. Bei Werten zwischen 0,8 und 0,9 wird der Index als gut, bei Werten zwischen 0,7 und 0,8 als mittelmäßig und bei Werten zwischen 0,6 und 0,7 als mangelhaft bezeichnet. Ein Wert im Umfeld von 0,5 spricht für einen Test von niedrigem Wert, da dieser auf dem Zufallsprinzip basiert [112].

Die Clopper Pearson Methode wurde verwendet um die genauen Konfidenzintervalle für Sensitivität (Se) und Spezifität (Sp) an verschiedenen *cut-off* Grenzen zu berechnen [113].

Der Youden-Index, als Maß zur Beurteilung der Güte eines diagnostischen Tests, wurde als Summe von Sensitivität (Se) und Spezifität (Sp) berechnet -1. Der Youden-Index kann Werte zwischen -1 und +1 annehmen, obwohl ein Test nur als vernunftmäßig erachtet wird bei Werten zwischen 0 und +1. Je näher der Youden-Index an 1 heran gelangt, desto zuverlässiger ist der Test [114]. Ein zuverlässiger Test zeichnet sich dadurch aus, dass er Gesunde und Kranke verlässlich identifiziert.

Variable mit einer verschobenen Verteilung wurden mittels natürlichem Logarithmus (ln) transformiert, bevor Korrelations- und Regressionsanalysen erfolgten.

Die Charakteristika (ROC, Se, Sp) dieses linearen Index sind identisch mit denen des originalen Index. Der originale Index wurde ausschließlich für Regressionsanalysen verwendet, für alle anderen Analysen wurde der lineare Index verwendet.

Alle p-Werte aus zweiseitigen Tests, welche kleiner als 5% waren, zeigten statistisch signifikante Unterschiede an.

2.3 Studienkollektiv

2.3.1 Nationale Kohorte

Die Nationale Kohorte ist eine bevölkerungsbezogene, prospektive Langzeitstudie, die von deutschen Forschungseinrichtungen, unter anderem der Helmholtz-Gemeinschaft, verschiedenen Universitäten und der Leibnitz-Gemeinschaft, ins Leben gerufen wurde [115]. Ziel der Nationalen Kohorte ist es, die großen Volkskrankheiten (Diabetes mellitus, Demenz, Krebserkrankungen, Infektionskrankheiten und Herz-Kreislauf-Erkrankungen) und ihre Risikofaktoren zu erforschen, um effektive Präventionsstrategien zu entwickeln. Im Rahmen dieses Projektes werden 200.000 Probanden zwischen 20 und 69 Jahren aus verschiedenen geografischen Regionen medizinisch untersucht und zu ihrem Lebensstil (z.B. körperliche Aktivität, Rauchen, Ernährung, Beruf) befragt. Die Probanden werden in 18 Studienzentren deutschlandweit in 4-5 Jahresabständen über insgesamt 20 Jahre untersucht [116].

2.3.2 Probandenkollektiv und -rekrutierung

Im Rahmen der ersten Machbarkeitsstudie für die Nationale Kohorte wurden am Deutschen Diabetes-Zentrum in Düsseldorf zwischen Juli und November 2011 insgesamt 146 Probanden im Alter zwischen 22 und 78 Jahren medizinisch untersucht, zu ihrem Lebensstil befragt und bei einem Teil der Probanden wurde ein Ganzkörper-MRT durchgeführt. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Daten bilden die Grundlage dieser Arbeit.

Die potentiellen Probanden wurden zunächst über eine Zeitungsanzeige und in einer zweiten Phase durch das Einwohnermeldeamt Düsseldorf rekrutiert. Das Einwohnermeldeamt Düsseldorf wählte Bewohner der Stadt Düsseldorf im Alter zwischen 20 und 69 Jahren aus, welche eine Einladung sowie Informationen zu der Machbarkeitsstudie erhielten. Probanden, die sich von vorneherein gegen die Teilnahme an der Studie entschieden, sind nicht in der Dropout-Rate enthalten.

Alle Probanden gaben ihr schriftliches Einverständnis für die Studienteilnahme. Die Probandendaten wurden mittels einer Codenummer pseudonymisiert. Jedem Probanden wurde eine Ziffernkennung für die Studienteilnahme und eine weitere interne Ziffernkennung für die Zuordnung zu den erhobenen Daten (Laborparameter, MRT-Aufnahmen, Bioprobenprotokolle) zugeordnet.

Die Studie wurde nach den Bedingungen der Deklaration von Helsinki (Version 2008 bzw. 2013) [117] durchgeführt und von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf positiv befürwortet.

2.4 Ablauf der Studie und Ausschlusskriterien

Die Untersuchungen wurden auf zwei Tage aufgeteilt. Am ersten Tag erfolgten zunächst ein standardisiertes Interview und eine anthropometrische Untersuchung, anschließend ein OGTT mit/und Blutentnahmen zu festgelegten Zeiten.

Zur Durchführung des OGTT mussten die Patienten nüchtern erscheinen. Das bedeutet es durfte keine Nahrungsaufnahme oder Aufnahme von Getränken (außer Wasser) in den letzten zehn Stunden vor der geplanten Blutentnahme erfolgt sein. Bei einem Verstoß wurde der Proband von der Studie ausgeschlossen. Zu den weiteren Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme gehörten Faktoren, die bekanntermaßen direkten Einfluss auf den Leberfettgehalt haben. Im Einzelnen waren dies eine nicht-kaukasische Abstammung, das Vorliegen eines T2DM sowie eine Hepatitis B oder C Erkrankung. Eine weitere absolute Kontraindikation war das Leiden des Probanden an einer Hämophilie, relative Kontraindikation war die Einnahme blutverdünnender Medikamente.

Auch Probanden die Medikamente einnahmen, die eine sekundäre Steatose auslösen können (s. Tabelle 1, Kapitel 1.3.), wurden von der Auswertung ausgeschlossen.

Nach Beendigung aller Untersuchungen des ersten Studientages erhielten die Probanden ein Frühstück, um eine reaktive Hypoglykämie zu vermeiden.

Bereits am ersten Studientag wurde den Probanden ein Fragebogen zur Erhebung von Kontraindikationen für eine MRT-Untersuchung ausgehändigt (z.B. Metallimplantate oder -prothesen, Klaustrophobie). Ergaben sich keine Kontraindikationen, erfolgte an einem weiteren Tag die Untersuchung im Magnetresonanztomograph. Der Termin des zweiten Studientages wurde individuell mit den Probanden vereinbart.

Jeder Teilbereich der Studie (Anthropometrie, Interview, Blutentnahme, Probenverarbeitung, MRT/MRS-Untersuchung) wurde nach einer standardisierten Vorgehensweise (SOP) durchgeführt.

2.4.1 Interview

Vor der Durchführung des Interviews wurden die Probanden über die Durchführung sowie den Inhalt der Studie aufgeklärt und ihr Einverständnis eingeholt. Das anschließend durchgeführte Interview wurde mithilfe eines Mikrofons und eines Computers aufgezeichnet. In diesem standardisierten Interview wurden die Probanden zu Lebensgewohnheiten (Ernährung, Alkoholkonsum, Nikotinkonsum, Bewegung) befragt. Zur genaueren Beurteilung des täglichen Alkoholkonsums wurden die Probanden explizit zu ihrem Alkoholkonsum in den vorangegangenen 7 Tagen befragt.

Zur Berechnung der Alkoholaufnahme wurde von einem Alkoholgehalt bei Bier von 5%, bei Wein von 12% und bei stärker alkoholhaltigen Getränken (*Shots*) von 40% ausgegangen.

Des Weiteren erfolgte in dem Interview eine ausführliche medizinische Anamnese, wobei insbesondere zuvor gestellte Diagnosen von chronischen Krankheiten, der Diagnosezeitpunkt und die Therapie dokumentiert wurden.

2.4.2 Anthropometrie

In der anthropometrischen Untersuchung wurden Körpergewicht, Größe und Taillenumfang gemessen. Größe und Gewicht des bis auf die Unterwäsche entkleideten Probanden wurden mit der Messstation Seca 285 erfasst. Der BMI wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{BMI} = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{\text{Körpergröße [m]}^2}$$

Der Taillenumfang wurde genau in der Mitte zwischen Beckenkamm und letzter Rippe parallel zum Boden gemessen. Der Hüftumfang wurde an der prominentesten Stelle des Gesäßes, parallel zum Boden gemessen.

Systolische und diastolische Blutdruckwerte wurden insgesamt dreimal erhoben, stets nach einer zehnmütigen Ruhepause in sitzender Position mithilfe eines standardisierten automatischen Geräts (OMRON HEM 705IT), die Blutdruckmanschette wurde dabei am Oberarm des Probanden angebracht. Zu Analysezwecken wurden die Mittelwerte der letzten beiden Messungen verwendet.

2.4.3 Oraler Glukosetoleranztest und Blutentnahme

Nachdem der Proband die Fragen des Bioprobenprotokolls beantwortet und sich keine Kontraindikationen für die Durchführung der weiteren Tests ergeben hatten, wurde eine Nüchternblutprobe genommen, dazu wurde dem Probanden eine Venenverweilkanüle in eine Vene der linken Ellenbeuge gelegt. Die Nüchternblutprobe wurde 5 min vor dem Beginn des OGTT entnommen. Im Anschluss an die Blutabnahme tranken die Probanden möglichst zügig die Glukoselösung ACCU-CHEK®.

Im weiteren Verlauf erfolgten Blutentnahmen 30, 60 und 120 Minuten nach Beginn des OGTT [118]. Zwischen den einzelnen Blutentnahmen wurde die Venenverweilkanüle mit einem Mandrin verschlossen und nach der letzten Blutentnahme umgehend entfernt und die Punktionsstelle entsprechend versorgt.

Die verwendeten Blutentnahmeröhrchen wurden vor der Blutentnahme mit Aufklebern versehen, welche die pseudonymisierte Codierungsnummer der Probanden, die Entnahmezeit und den Verwendungszweck kenntlich machten.

Die Auswertung der Blutproben erfolgte teils im Deutschen Diabetes-Zentrum, teils im Zentrallabor des Universitätsklinikums Düsseldorf.

Im Einzelnen erfolgte in den Blutentnahmen die Bestimmung der folgenden Parameter:

Basisblutentnahme: kleines Blutbild, Kreatinin, GOT, GPT, GGT, Triglyzeride, Cholesterin, LDL, HDL, freie Fettsäuren, HbA_{1c}, Glukose, C-Peptid, Insulin, Metabolomics, Zytologie.

30 min Entnahme: Glukose, C-Peptid, Insulin

60 min Entnahme: Glukose, C-Peptid, Insulin

120 min Entnahme: Glukose, C-Peptid, Insulin, Metabolomics, Zytologie

Klinische Chemie: Nach der Blutentnahme in ein Serumröhrchen wurde dieses zweimal um 180° geschwenkt und anschließend für 30-45 Minuten in stehender Position bei Raumtemperatur gelagert. Im Anschluss erfolgte eine 15-minütige Zentrifugation bei 4 °C mit 1800 g. Das Serum wurde in Serumröhrchen pipettiert und bei 6 °C gelagert. Innerhalb von maximal zwei Stunden wurde das Analyseröhrchen in einem Kühlbehälter zur weiteren Analyse in das Zentrallabor der Universitätsklinik Düsseldorf transportiert.

Kleines Blutbild: Die Blutentnahme erfolgte in ein EDTA-Röhrchen, welches unmittelbar nach der Blutentnahme zweimal um 180° geschwenkt und anschließend bei 6 °C gelagert wurde. Gemeinsam mit den Proben für die klinische Chemie wurden die EDTA-Röhrchen in einem Kühlbehälter in das Zentrallabor der Universitätsklinik Düsseldorf transportiert.

DNA: Die Blutentnahme erfolgte in ein EDTA-Röhrchen, welches unmittelbar nach der Blutentnahme zweimal um 180° geschwenkt wurde. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurden aus dem Röhrchen 200 µl in ein Kryoröhrchen pipettiert, welches im Gefrierschrank bei -20 °C gelagert wurde. Die weitere Verarbeitung der Proben erfolgte im Institut für Umweltmedizinische Forschung, Düsseldorf.

Freie Fettsäuren: 1 ml Probandenblut wurde zur Bestimmung der freien Fettsäuren in ein Mikroprobengefäß (EDTA mit 40 µl Orlistat-Stammlösung [119]) gefüllt. Zur quantitativen Bestimmung der freien Fettsäuren wurde der enzymatische Farbttest NEFA-HR(2) der Firma Wako (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland) verwendet. Freie, nicht veresterte Fettsäuren wurden dabei durch das Enzym Acyl-CoA Synthetase unter Mitwirkung von Coenzym-A und Adenosin-5-Triphosphat-Dinatriumsalz zu Acyl-CoA, AMP und Phosphorsäure aufgespalten. Acyl-CoA wurde durch das Enzym Acyl-CoA-Oxidase zu 2,3-trans-Enoyl-CoA und Wasserstoffperoxid umgesetzt. Durch Zufügen von Peroxidase, 3-Methyl-N-Ethyl-N-Anilin wurde ein blau-violetter Farbkomplex gebildet. Anhand einer Absorptionsmessung konnte so die Konzentration der freien Fettsäuren quantifiziert werden.

HbA1c: Zur Bestimmung des HbA1c wurde ein Serumröhrchen verwendet, welches bei Raumtemperatur gelagert wurde. Die anschließende Weiterverarbeitung der Probe erfolgte mittels eines VARIANT™ II Hämoglobin-Analysesystem (Bio-Rad Laboratories GmbH, 80901 München, Deutschland).

Insulin und C-Peptid: Die Blutabnahme erfolgte in ein Serumröhrchen, welches zur Gerinnungsprophylaxe zweimal um 180° direkt nach der erfolgten Blutabnahme geschwenkt wurde. Aufrechtstehend erfolgte zunächst eine circa 15-minütige Lagerung bei Raumtemperatur. Anschließend erfolgte eine 30-minütige Zentrifugierung bei 15 °C mit 2000

g. Das gewonnene Serum wurde auf drei Kryoröhrchen verteilt, wobei jedes einzelne mindestens 100 µl enthielt.

Die Proben zur Bestimmung des Insulins wurden entweder bei +4 °C für 48 h gelagert und dann verarbeitet, alternativ erfolgte eine Lagerung der Proben für 12 Wochen bei -20 °C bevor eine weitere Verarbeitung erfolgte. Für die Bestimmung des Insulins wurden 100 µl des Probandenserums benötigt.

Zur Bestimmung des C-Peptids wurden noch am Entnahmetag mindestens 25 µl des Probandenserums weiterverarbeitet. Die Insulin- und C-Peptidbestimmung erfolgte mittels Chemiluminescence Immunoassay auf einem IMMULITE® 2000 (Global Siemens Healthcare Headquarters Siemens AG, 91052 Erlangen, Deutschland) [120].

Für die Bestimmung des C-Peptids bestand die Festphase des Zweiphasen-Assays aus einer Kugel mit einer Beschichtung aus monoklonalem Maus-anti-C-Peptid-Antikörper, während die Flüssigphase aus aus Rinderdarm gewonnener alkalischer Phosphatase bestand, welche in Pufferlösung an einen monoklonalen Maus-anti-C-Peptid-Antikörper gebunden war. Zur Bestimmung des C-Peptids wurden das Probandenserum und die zwei Phasen für 30 Minuten inkubiert, sodass sich ein Antikörper-Sandwich-Komplex zwischen dem Probandenserum und den Antikörpern der festen und flüssigen Phase bildete. Anschließend erfolgte eine Waschung, sodass nur die gebildeten Antikörper-Sandwich-Komplexe zurückblieben. Eine Chemilumineszenz wurde beigefügt, welche ein Lichtsignal proportional zum gebundenen Enzym generierte.

Ergebnisse wurden in ng/ml angegeben. Der von der Firma angegebene Median lag bei 2,2 ng/ml.

Ebenso wie zur Bestimmung des C-Peptids [120] wurde zur Bestimmung des Insulins der Immulite 2000 Analyzer verwendet. Die Inkubationszeit beträgt 60 min. Die feste Phase (Kugel) war mit einem murinen monoklonalen anti-Insulin-Antikörper beschichtet und der flüssigen Phase (alkalische Phosphatase aus Rinderdarm) waren zwei Antikörper beigefügt, ein polyklonaler (Schaf) Anti-Insulin-Antikörper und ein monoklonaler (Maus) Anti-Insulin-Antikörper.

Die Ergebnisse wurden in µIU/ml angegeben. Als Referenzwert wurde von der Firma ein Median von 9,3 µIU/ml angegeben.

Glukose: Mit einer Einmalspritze wurde den Probanden 1ml entnommen und unmittelbar in ein Mikro-Probengefäß umgefüllt. Das Probengefäß wurde etwa 10mal um 180° geschwenkt bevor es bei Raumtemperatur in stehender Position gelagert wurde. Die Blutglukose Messung erfolgte mittels eines EPOS 5060 Analyzer der Firma Eppendorf. Die Glukose reagierte dazu mit dem Enzym Glukoseoxidase zu D-Glukonsäure und H₂O₂. Anschließend kommt es zur Oxidation von Wasserstoffperoxid und es entsteht ein elektrisches Signal an einer Platinelektrode, welches sich proportional zu der in der Probe vorhandenen Glukose verhält.

Metabolomics: Nach einer Lagerung auf Eis von ca. 30 Minuten wurden die Proben zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und auf zwei Kryoröhrchen verteilt.

RNA: Die Röhrchen zur RNA Bestimmung wurden in einer lichtgeschützten Box gelagert und anschließend bei -20 °C eingefroren. Die weitere Verarbeitung erfolgte zu einem späteren Zeitpunkt.

2.4.4 ¹H-MRS und MRT

Die etwa 90-minütige MR-Untersuchung wurde von einem ärztlichen Mitarbeiter des DDZ freigegeben, sofern bei dem Probanden keine Kontraindikationen für eine MR-Untersuchung vorlagen.

Der HCL wurde mithilfe einer 16-Kanal-phasengesteuerten Empfängerspule (Philips Healthcare) ermittelt [121]. Nachdem Übersichtsaufnahmen in drei Ausrichtungen aufgenommen wurden, wurden transversale T2-gewichtete Aufnahmen mit mehrzeiligen 2D Spin-Echo-Aufnahmen (Repetitionszeit [TR]/Echozeit [TE] = 2081/80 ms; Field of View [FOV]: 450 x 345 mm²) erstellt, um die genaue Position des Diaphragmas und damit der Leber zu identifizieren. Die Aufnahmen wurden mithilfe von Atemkommandos aufgenommen.

Im Folgenden wurde ein Voxel in der Leber positioniert und der Leberfettgehalt mittels ¹H-MRS ermittelt. Dazu wurde in einem Volumen von 3x3x2 cm³ in der Leber eine *stimulated echo acquisition mode* (STEAM) Sequenz genutzt. Die Wiederholungszeit betrug 4 s, die Echozeit 10 ms. Zur Erhöhung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses wurden 32 Spektren gemittelt. Damit der verfettete Anteil der Leber genau bestimmt werden konnte,

wurde eine Reihe von nicht-wasserunterdrückenden und wasserunterdrückenden Spektren erstellt. Das Vorgehen erfolgte, da die Fett-Peaks (CH_2 und CH_3) in einer gesunden Leber von dem H_2O überlagert werden und so die Ergebnisse verfälscht würden [121].

Mittels Ganzkörper-MRT wurde das Lebervolumen bestimmt (HVOL) und es erfolgte eine Abschätzung des Gehalts an Fettgewebe. Dies wurde unterteilt in Gesamtfettgewebe (AT_{tot}), subkutanes Fettgewebe (SAT) und viszerales Fettgewebe (VAT). Zur Bestimmung wurden transversale Mehrschichtschnittbilder in T1-Wichtung mittels Spin-Echo-Technik mit einem Turbofaktor von 7, einer Echozeit von 38 ms und einer Repetitionszeit zwischen 400 und 510 ms angefertigt. +

3 ERGEBNISSE

3.1 Ausschlusskriterien

Für die Teilnahme an der Studie konnten insgesamt 146 Probanden rekrutiert werden. Nachdem bei zwei Probanden eine Kontraindikation für eine Blutentnahme bestand, konnte bei 144 Probanden eine Blutentnahme sowie das standardisierte Interview durchgeführt werden. Bei insgesamt 17 Probanden konnte aufgrund eines vorbekannten Diabetes mellitus oder einer fehlenden Einverständniserklärung kein OGTT durchgeführt werden. Bei 127 Probanden konnte somit sowohl der OGTT als auch das standardisierte Interview durchgeführt werden. Bei 29 Probanden bestand eine Kontraindikation für die Durchführung der MRT. Bei zwei der verbleibenden Probanden konnte die Ganzkörper-MRT nicht durchgeführt beziehungsweise nicht ausgewertet werden. Bei drei Probandinnen ergab sich anamnestisch ein Gestationsdiabetes, aufgrund des erhöhten Risikos eines folgenden T2DM wurden sie aus dem Studienprotokoll ausgeschlossen. Bei einem Probanden wurde im OGTT ein T2DM nachgewiesen, was ebenfalls zu einem Ausschluss führte, sodass insgesamt die Daten von 92 Probanden in die Auswertung eingingen.

3.2 Patientencharakteristika

	Keine Steatose	Steatose	Keine Steatose +LRA	Steatose +LRA
N (m/f)	75 (29/46)	17 (7/10)	54 (25/29)	11 (6/5)
Alter (Jahre)	57,1±12,2	59,9±8,5	56,8±13,1	59,7±9,0
Alkohol (g/d)	18,1±16,1	26,1±18,8	11,1±9,7	18,1±12,9
BMI (kg/m²)	25,3±4,1	28,2±2,8**	25,2±4,1	27,8±2,3 [§]
Taille (cm)	87,1±12,4	94,6±8,5*	87,0±12,3	94,7±6,6 ^{§§}
SBP (mmHg)	121,6±15,6	128,1±10,3	122,5±14,3	129,5±6,7 [§]
DBP (mmHg)	72,54±8,7	79,3±8,0**	71,9±7,6	80,1±8,9 ^{§§}
MS (n)	6	4	3	2

Tabelle 6: Basischarakteristika

Normalverteilte Daten dargestellt als Mittelwert±Standardabweichung; Log-Normalverteilte Daten dargestellt als Median [25%Quartil;75%Quartil]; * p<0,05; ** p<0,01 für Steatose vs. keine Steatose; § p<0,05; §§ p<0,01, §§§ p<0,001 für Steatose vs. keine Steatose in LRA;

Abkürzungen: BMI = Body-Mass-Index, DBP = diastolischer Blutdruck, MS= metabolisches Syndrom, N = Grundgesamtheit, SBP = systolischer Blutdruck.

Von den insgesamt 92 Probanden waren 39% männlich und 61% weiblich (Tabelle 6). Wie der Tabelle ferner zu entnehmen ist, konnte bei der überwiegenden Anzahl der Probanden im MRT keine Steatose nachgewiesen werden. Alter und Alkoholkonsum wiesen zwischen Probanden mit und ohne Steatosis hepatis keinen signifikanten Unterschied auf (Tabelle 6). Dennoch wurden die 65 Probanden mit einer LRA getrennt betrachtet und mit der Gesamtkohorte verglichen [19].

Der Taillenumfang, BMI, SBP und DBP waren sowohl in der Gesamtgruppe als auch in der LRA-Gruppe bei Probanden mit einer Steatose größer bzw. höher als bei Probanden ohne Steatose. Die Probanden der Gesamtkohorte lagen bezüglich des BMI durchschnittlich bereits im präadipösen Bereich [108].

Insgesamt lag bei 11% aller Probanden ein metabolisches Syndrom vor.

3.3 Laborchemische Charakteristika

	Keine Steatose	Steatose	Keine Steatose +LRA	Steatose +LRA
N (m/f)	75 (29/46)	17 (7/10)	54 (25/29)	11 (6/5)
TG (mg/dl)	78 [60;117]	109[84;153]*	79[56;110]	125[87;153] [§]
HDL (mg/dl)	68,3±17,8	58,1±12,7*	67,3±18,2	55,7±12,7 [§]
AST (U/L)	24[21;28]	25[22;32]	24[21;28]	23[21;31]
ALT (U/L)	18[14;25]	26[17;46]**	18[13;24]	26[17;29] [§]
GGT (U/L)	20[14;30]	30[20;35]	21[14;30]	30[20;35]
G₀ (mg/dl)	75,7±8,3	77,6±10,7	75,5±7,9	77,2±9,5
G₁₂₀ (mg/dl)	89,7±21,5	96,7±26,0	89,7±21,3	92,6±27,7
I₀ (µU/ml)	6[5;9]	8[6;13]*	6[5;9]	8[6;12] [§]
I₁₂₀ (µU/ml)	37[24;57]	64[38;119]***	33 [23;57]	67[38;102] [§]
Hep_ Extr (%)	69[62;74]	60[57;66]**	69[62;73]	59[56;66] ^{§§}

Tabelle 7: Laborchemische Patientencharakteristika

Normalverteilte Daten dargestellt als Mittelwert±Standardabweichung; Log-Normalverteilte Daten dargestellt als Median [25%Quartil;75%Quartil]; * p<0,05; ** p<0,01 für Steatose vs. keine Steatose; § p<0,05; §§ p<0,01, §§§ p<0,001 für Steatose vs. keine Steatose in LRA;

Abkürzungen: ALT = Alanin-Aminotransferase, AST = Aspartat-Aminotransferase, G₀ = nüchtern Glukosespiegel, G₁₂₀ = Glukosespiegel nach 120 Minuten, GGT = Gamma-Glutamyl-Transferase, HDL = High Density Lipoprotein, Hep_ Extr = hepatische Insulinextraktion, I₀ = nüchtern Insulinspiegel, I₁₂₀ = Insulinspiegel nach 120 Minuten, LRA= Low risk alcohol consumption, N = Grundgesamtheit, TG = Triglyzeride

Wie Tabelle 7 zu entnehmen ist, waren die Triglyzeride bei Patienten mit einer Steatose sowohl in der Gesamtgruppe als auch in der LRA-Gruppe höher. Das HDL-Cholesterin war in beiden Gruppen bei Probanden mit Steatose niedriger als bei Probanden ohne Steatose.

Die AST und GGT zeigten keine Unterschiede zwischen Probanden mit und ohne Steatose, wohingegen die ALT sowohl in der Gesamtgruppe als auch in der LRA-Gruppe Unterschiede zwischen Probanden mit und ohne Steatose aufwies (s. Tabelle 7).

Die nüchtern gemessenen Glukosewerte und die Glukosewerte 120 Minuten nach Beginn des OGTT wiesen bei Probanden mit und ohne Steatose keine Unterschiede auf.

Dahingegen wiesen die Insulinkonzentrationen Unterschiede zwischen Probanden mit und ohne Steatose auf. Die nüchternen Insulinkonzentrationen waren bei vorliegender

Steatose, sowohl in der Gesamt- als auch in der LRA-Gruppe, signifikant erhöht gegenüber den Werten von Probanden ohne Steatose (Gesamtgruppe: 6 [5; 9] vs. 8 [6, 13] $\mu\text{U/ml}$; $p < 0,05$; LRA-Gruppe: 6 [5; 9] vs. 8 [6; 12] $\mu\text{U/ml}$; $p < 0,05$).

Die Insulinkonzentration 120 Minuten nach Beginn des OGTT ist in der Gesamtgruppe bei Probanden mit Steatose erhöht (37 [24; 57] vs. 64 [38; 119] $\mu\text{U/ml}$, $p < 0,001$). In der LRA-Gruppe ist diese Erhöhung bei Probanden mit Steatose etwas geringer, aber immer noch vorhanden (33 [23; 57] vs. 67 [38; 102] $\mu\text{U/ml}$, $p < 0,05$).

3.3.1 Lebertvolumen und Fettgewebe

	Keine Steatose	Steatose	Keine Steatose +LRA	Steatose +LRA
N (m/f)	75 (29/46)	17 (7/10)	54 (25/29)	11 (6/5)
HCL (%)	1,3[0,4;3,4]	13,6[8,3;22,3]	1,1[0,4;2,9]	11,8[8,3;20,1]
HVOL (L)	1,6[1,4;1,8]	1,8[1,8;1,9]**	1,6[1,4;1,8]	1,8[1,7;1,9] [§]
AT_{tot} (L)	22[18;29]	29[27;32]***	22[18;27]	28[24;32] [§]
VAT (L)	2,9[1,7;4,4]	4,3[3,3;6,5]**	3,1[1,6;4,4]	4,6[3,3;6,5] ^{§§§}
SAT (L)	5,5[4,4;8,1]	7,4[6,6;9,4]	5,4[4,4;7,4]	7,4[5,6;9,4]

Tabelle 8: Lebertvolumen und Fettgewebe

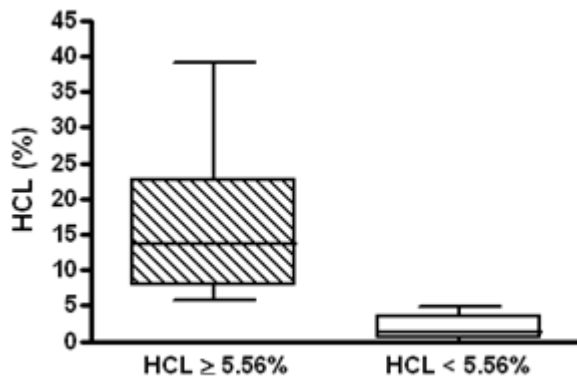
Normalverteilte Daten dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung; Log-Normalverteilte Daten dargestellt als Median [25%Quartil;75%Quartil]; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ für Steatose vs. keine Steatose; [§] $p < 0,05$; ^{§§} $p < 0,01$, ^{§§§} $p < 0,001$ für Steatose vs. keine Steatose in LRA;

Abkürzungen: AT_{tot} = Gesamtkörperfettmasse, HVOL = Lebertvolumen, LRA = Low risk alcohol consumption, N = Grundgesamtheit, SAT = subkutanes Fettgewebe, VAT = viszerales Fettgewebe

Das HVOL war in beiden Untergruppen bei Probanden mit Steatose vergrößert. Wie der Tabelle zu entnehmen ist, zeigte sich dieser Unterschied in der Gesamtkohorte noch deutlicher als in der LRA-Gruppe.

Gesamtfettgewebe (AT_{tot}) sowie viszerales (VAT) und subkutanes (SAT) Fettgewebe waren bei Probanden mit vorliegender Steatose gegenüber Probanden ohne Steatose stets vermehrt vorhanden (s. Tabelle 8).

3.3.2 Hepatozellulärer Lipidgehalt (HCL)

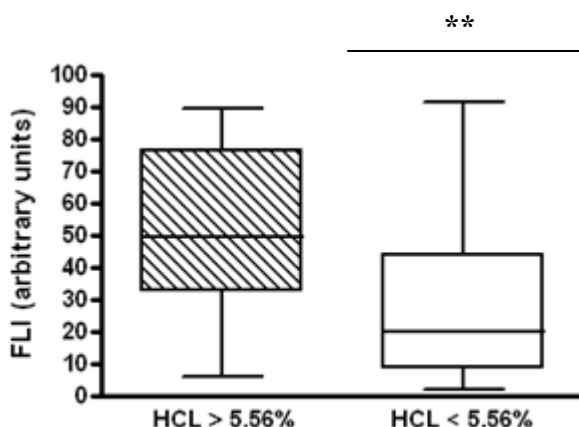


(■ = Steatose; □ = keine Steatose)

Abb. 3: Vergleich des hepatozellulären Lipidgehalts (HCL in %) bei Probanden mit und ohne Steatosis hepatis [122]

Hier grafisch dargestellt ist die Verteilung des HCL bei Probanden mit und ohne Steatose. Insgesamt variierte der HCL bei den untersuchten Probanden zwischen 0,03 und 39,1%. Der Median lag bei 2,49% (0,62; 4,23). In der LRA-Gruppe variierten die Werte zwischen 0,05 und 30,34% mit einem Median von 1,47 (0,60; 4,02)%. Bei den Probanden mit einer Steatose liegt der maximale HCL bei 39,1 %. Der Median liegt bei 13,63 (8,31; 22,32)%. In der Gruppe der Probanden ohne Steatose liegt der Median des HCL bei 1,33 (0,37; 3,37)%.

3.3.3 Berechnung des FLI



(■ = Steatose; □ = keine Steatose)

Abb. 4: Vergleich des FLI bei Probanden mit und ohne Steatosis hepatis [122]

Die Berechnungen des FLI ergaben Werte zwischen 1,61 und 91,44 mit einem Median von $33,46 \pm 26,86$. Die Werte für Gesamt- und LRA-Kollektiv wiesen keine großen Unterschiede auf. In der Gruppe der Probanden mit einer Steatose ($HCL \geq 5,56$) lag der Median des FLI bei 49,4 (35,7; 75,0). Bei den Probanden ohne Steatose ($HCL < 5,56$) lag der Median des FLI bei 19,6 (8,1; 43,6). Der FLI zeigte in der Gesamtgruppe ($p < 0,01$) und in der LRA Gruppe ($p < 0,05$) eine Erhöhung bei vorlegender Steatose.

3.3.4 Diagnostische Treffsicherheit des FLI

Unter Anwendung der ursprünglich von Bedogni et al. publizierten Grenzwert (FLI < 30 NAFLD ausgeschlossen, FLI > 60 Nachweis einer Fettleber) erzielte der FLI in der Validierung mittels 1H -MRS in der Gesamtkohorte eine Sensitivität von 0,76 [0,50; 0,93] und eine Spezifität von 0,83 [0,72; 0,90].

Zur differenzierteren Betrachtung wurden die Werte nach „Steatose“ ($HCL \geq 5,56\%$) und nach „keine Steatose“ ($HCL < 5,56\%$) aufgetrennt.

3.3.5 ROC/AROC

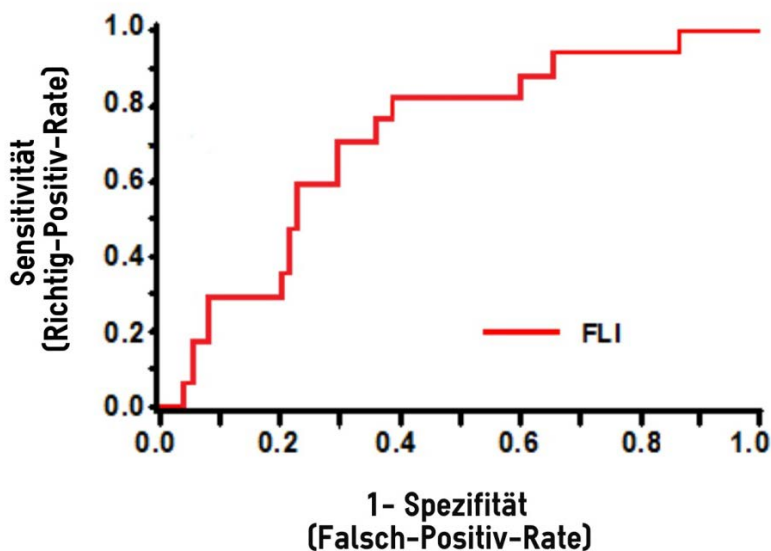


Abb. 5: ROC Kurve nach [122]

Der AROC-Wert der Gesamtgruppe für den FLI lag bei 0,72 mit einem 95% Konfidenzintervall von [0,59; 0,87]. In der LRA-Gruppe liegt der AROC Wert des FLI bei 0,75 [0,63; 0,88].

Der FLI erzielte einen AROC Wert von 0,72 (Gesamtkollektiv) beziehungsweise 0,75 (LRA-Kohorte).

3.3.6 AROC Werte für verschiedene HCL Cut-Off-Werte

Die Ergebnisse unterscheiden sich, wenn die Werte für die Steatose verändert werden. Hebt man den Grenzwert des HCL, der eine Steatose definiert, über 5,56% an, verbessert sich der AROC Wert des FLI zunächst stetig. Ab einem Grenzwert von 7% zeigt sich keine weitere Verbesserung des AROC wie Abbildung 8 zu entnehmen ist.

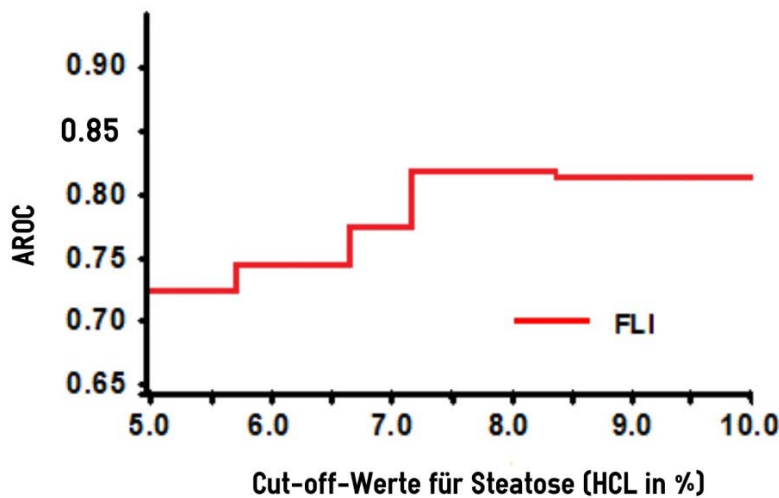


Abb. 6: AROC des FLI für unterschiedliche HCL Cut-Off-Werte nach [122]

Abkürzungen: AROC = area under the receiver operating characteristics curve, FLI = Fatty Liver Index, HCL = hepatozellulärer Lipidgehalt

3.3.7 Optimaler Cut-Off-Wert für den FLI

Der FLI erreichte mit dem ursprünglichen HCL Cut-Off-Wert von 5,56% eine Sensitivität von 0,76 [0,50; 0,93] und eine Spezifität von 0,83 [0,72; 0,90].

Im Rahmen der Studie wurde versucht die optimalen Grenzwerte für den FLI zu ermitteln, um eine möglichst hohe Aussagekraft bzw. einen möglichst hohen Youden-Index (Sensitivität + Spezifität -1) zu erreichen.

Mit dem errechneten Youden-Index von 29,2 für den FLI konnte im Gesamtkollektiv eine Sensitivität von 0,82 sowie eine Spezifität von 0,61 erreicht werden. In der LRA-Untergruppe wurden mit dem Cut-Off-Wert von 29,2 eine Sensitivität von 0,91 und eine Spezifität von 0,67 erzielt.

3.4 Korrelation des hepatozellulären Lipidgehalts und des FLI mit dem Blutglukosespiegel, der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion

3.4.1 Blutglukosespiegel

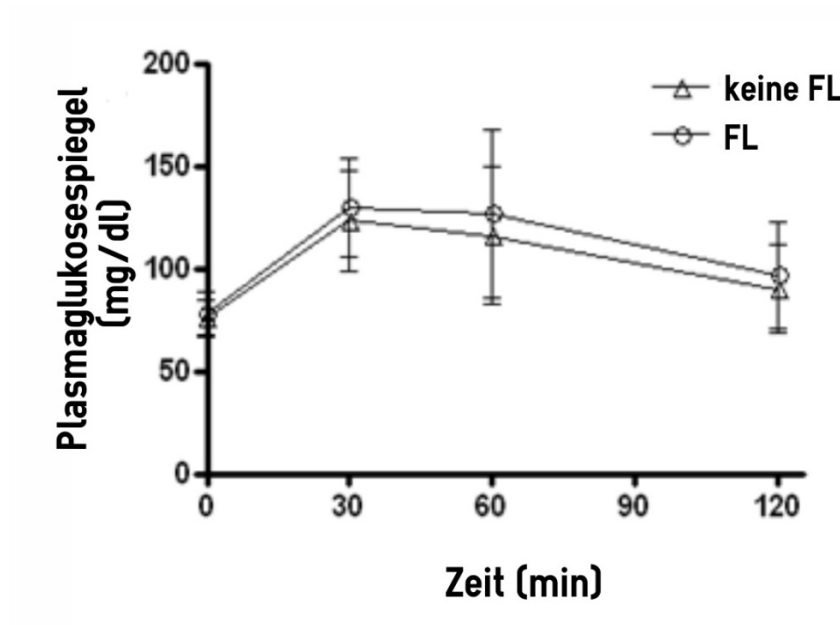


Abb. 7: Plasmaglukosespiegel der Gesamtkohorte während des OGTT nach [122]

Keine FL = Probanden ohne Steatosis hepatis, FL= Probanden mit Steatosis hepatis

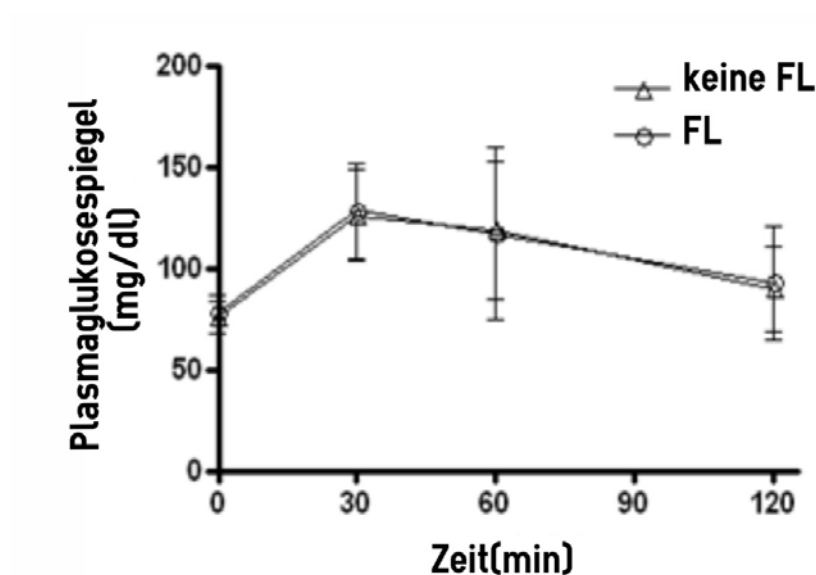


Abb. 8: Plasmaglukosespiegel der LRA-Gruppe während des OGTT nach [122]

Keine FL = Probanden ohne Steatosis hepatis, FL= Probanden mit Steatosis hepatis

Probanden mit und ohne Steatose wiesen in der Gesamtgruppe und in der LRA-Gruppe, wie die Abbildungen 7 und 8 verdeutlichen, ähnliche Blutglukosespiegel während der OGTT-Untersuchung auf.

3.4.2 Insulin- und C-Peptidkonzentrationen

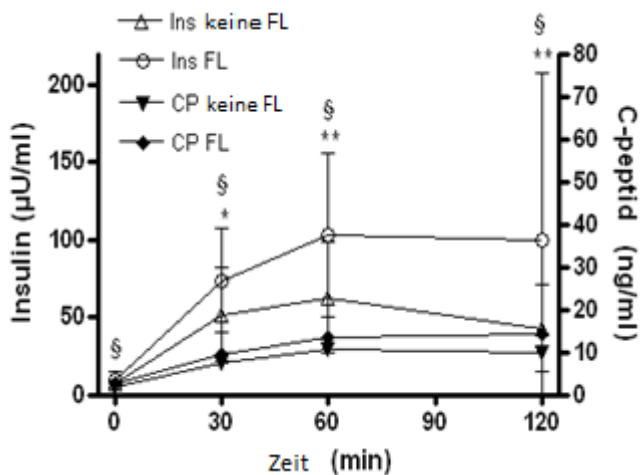


Abb. 9: Insulin- und C-Peptidkonzentrationen der Gesamtgruppe während des OGTT nach [122]

Ins keine FL = Insulinspiegel für Probanden ohne Steatosis hepatis, Ins FL = Insulinspiegel für Probanden mit Steatose, CP keine FL = C-Peptidspiegel für Probanden ohne Steatosis hepatis, CP FL = C-Peptidspiegel für Probanden mit Steatose

*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$ für Insulin; §, $p < 0,05$ für C-Peptid

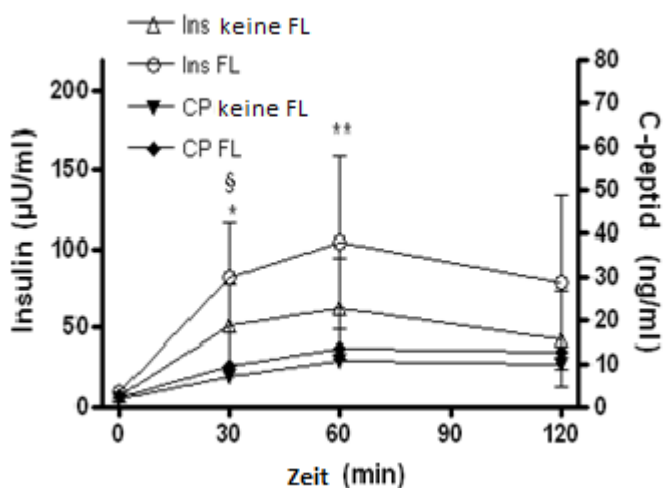


Abb. 10: Insulin- und C-Peptidkonzentrationen der LRA-Gruppe während des OGTT nach [122]

Ins keine FL = Insulinspiegel für Probanden ohne Steatosis hepatis, Ins FL = Insulinspiegel für Probanden mit Steatose, CP keine FL = C-Peptidspiegel für Probanden ohne Steatosis hepatis, CP FL = C-Peptidspiegel für Probanden mit Steatose

*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$ für Insulin; §, $p < 0,05$ für C-Peptid

Der Insulinspiegel während des OGTT war in der Testung bei Probanden mit einer Steatose, sowohl in der Gesamt-(Abbildung 19) als auch in der LRA-Gruppe (Abbildung 10), höher als bei Probanden ohne Steatose.

Wie Abbildung 11 darüber hinaus zu entnehmen ist, waren die Unterschiede der Insulinkonzentration nach 120 Minuten (I_{120}) bei Probanden mit einer Steatose im Vergleich zu Probanden ohne Steatose ($p < 0,01$) noch stärker ausgeprägt als die I_{30} und I_{60} .

In der LRA-Gruppe war die Erhöhung der Insulinspiegel bei Probanden mit einer Steatose nach 30 Minuten (I_{30} , $p < 0,05$) und nach 60 Minuten (I_{60} , $p < 0,01$) höher als bei Probanden ohne Steatose.

Auch die C-Peptid-Konzentration war in beiden Gruppen bei Probanden mit Steatose höher als bei Probanden ohne Steatose. In der Gesamtgruppe waren sowohl die Ausgangs-C-Peptid-Konzentrationen als auch die C-Peptid-Konzentrationen nach 30, 60 und 120 Minuten bei Probanden mit Steatose signifikant höher als bei Probanden ohne Steatose ($p < 0,05$). In der LRA-Gruppe wies nur die C-Peptid-Konzentration nach 30 Minuten auffällig höhere Werte bei Probanden mit einer Steatose im Vergleich zu Probanden ohne Steatose auf ($p < 0,05$).

Insgesamt waren die Konzentrationsunterschiede für Insulin und C-Peptid zwischen Probanden mit und ohne Steatose in der LRA-Gruppe etwas geringer ausgeprägt als in der Gesamtgruppe. Dies ist womöglich auf den geringeren Stichprobenumfang in der LRA-Gruppe zurückzuführen.

3.5 Korrelation des HCL und des FLI mit der Fettverteilung, der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion

Es erfolgte eine Korrelationsanalyse des HCL und des FLI mit der Fettverteilung sowie den Indices der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion.

3.5.1 Leberfettgehalt, Lebervolumen und Fettverteilung

Variable		HCL_In	FLI
HCL_In	Gesamtkohorte	1	0,50***
	LRA	1	0,43***
HVOL_In	Gesamtkohorte	0,36***	0,52***
	LRA	0,30*	0,48***
AT _{tot} _In	Gesamtkohorte	0,37***	0,65***
	LRA	0,26*	0,56***
SAT_In	Gesamtkohorte	0,32**	0,64***
	LRA	0,25*	0,58***
VAT_In	Gesamtkohorte	0,52***	0,78***
	LRA	0,47***	0,76***

Tabelle 9: Korrelation des HCL und des FLI mit der Körperfettverteilung

*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$;

Abkürzungen: AT_{tot} = gesamt Fettgewebe, HCL = hepatozellulärer Lipidgehalt, HVOL = Lebervolumen, SAT = subkutanen Fettgewebe, VAT = viszerales Fettgewebe

Die Auswertung der Daten ergab eine starke Korrelation zwischen HCL und dem FLI sowohl in der Gesamt- als auch in der LRA-Gruppe ($p < 0,001$).

Wie der Tabelle zu entnehmen ist, bestand in der Gesamtgruppe zwischen HVOL und HCL sowie zwischen HVOL und dem FLI eine hochsignifikante Korrelation ($p < 0,001$).

Eine gleichsam hochgradige Korrelation bestand zwischen der Menge des Fettgewebes (AT_{tot}) und dem HCL sowie dem FLI im Gesamtkollektiv ($p < 0,001$).

Zwischen der Menge des Gesamtfettgewebes sowie dem viszeralen Fettgewebe und dem HCL bestand in der Gesamtgruppe eine hochsignifikante Korrelation ($p < 0,001$), ähnlich verhält es sich zwischen der Menge an subkutanem Fettgewebe und dem HCL ($p < 0,01$) (s. Tabelle 9).

Die Korrelation zwischen der Menge an Gesamtfettgewebe (AT_{tot}), viszeralem (VAT) sowie subkutanem Fettgewebe (SAT) mit dem FLI ist im Gesamtkollektiv sowie in der LRA-Gruppe deutlich ausgeprägt ($p < 0,001$) (Tabelle 9).

3.5.2 Insulinsensitivität

Der FLI und der HCL zeigten eine starke umgekehrte Korrelation mit den Indices der Insulinsensitivität.

Variable		HCL_In	FLI
ISI _{comp} _ln	Gesamtkohorte	-0,46***	-0,62***
	LRA	-0,34**	-0,59***
OGIS	Gesamtkohorte	-0,46***	-0,62***
	LRA	-0,39**	-0,55***
QUICKI	Gesamtkohorte	-0,38***	-0,55***
	LRA	-0,24*	-0,46***

Tabelle 10: Korrelation des hepatozellulären Lipidgehalts (HCL) und des FLI mit der Insulinsensitivität

*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$;

Abkürzungen: FLI = Fatty Liver Index, HCL = hepatozellulärer Lipidgehalt, ISI_{comp} = composite insulin sensitivity index (Matsuda Index), LRA = Niedriger Alkoholkonsum nach Klassifikation der WHO, O-GIS = Oral Glucose Insulin Sensitivity Index, QUICKI = Qualitative Insulin Sensitivity Check Index

Die umgekehrte Korrelation zwischen dem **composite insulin sensitivity index (ISI_{comp})** [108] und dem Leberfettgehalt (HCL) sowie dem FLI erwies sich, wie Tabelle 10 zu entnehmen ist, in der Gesamtkohorte als sehr stark ausgeprägt ($p < 0,001$). In der LRA-Gruppe war die umgekehrte Korrelation zwischen ISI_{comp} und HCL ($p < 0,01$) und zwischen ISI_{comp} und FLI ($p < 0,001$) ebenfalls charakteristisch (Tabelle 10).

Die Korrelationsanalyse mit der **Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS)** [106], die es ermöglicht die Insulinsensitivität des gesamten Körpers zu berechnen, ergab ähnlich eindeutige Werte. OGIS zeigt eine umgekehrte eindeutige Korrelation mit HCL und FLI der Gesamtkohorte sowie mit dem FLI in der LRA-Gruppe ($p < 0,001$) (s. Tabelle 10).

In der Gesamtgruppe besteht, wie der Tabelle 10 zu entnehmen ist, eine umgekehrte hochsignifikante Korrelation des HCL und des FLI mit dem **Qualitative Insulin Sensitivity Check Index ((QUICKI)** ($p < 0,001$), einem Index zur Abschätzung der hepatischen Insulinsensitivität [105].

In der LRA-Gruppe korreliert der QUICKI ebenfalls entgegengesetzt mit dem HCL ($p < 0,05$), die umgekehrte Korrelation des QUICKI mit dem FLI ist in beiden Gruppen sogar noch stärker nachweisbar ($p < 0,001$).

3.5.3 β -Zellfunktion

In beiden Untergruppen korrelierten HCL und FLI mit den Indices der β -Zellfunktion wie in Tabelle 11 dargestellt ist.

Variable		HCL-ln	FLI
DI_ln	Gesamtkohorte	0,36***	0,47***
	LRA	0,24	0,47***
B-cell function_ln	Gesamtkohorte	0,28**	0,57***
	LRA	0,10	0,54***
Ins-release_ln	Gesamtkohorte	0,30**	0,47***
	LRA	0,12	0,41***
AI	Gesamtkohorte	0,22*	0,34***
	LRA	0,14	0,29*
IGI_Ins_ln	Gesamtkohorte	0,22*	0,16
	LRA	0,15	0,11
IGI_Instot_ln	Gesamtkohorte	0,20	0,11
	LRA	0,13	0,08
Hep_Extr_ln	Gesamtkohorte	-0,34***	-0,39***
	LRA	-0,24	-0,39***

Tabelle 11: Korrelation des HCL und des FLI mit der β -Zellfunktion

*, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$; ***, $p < 0,001$;

Abkürzungen: AI = Adaption Index, DI = Disposition Index, FLI = Fatty Liver Index, HCL = hepatozellulärer Lipidgehalt, Hep_Extr = hepatische Insulinextraktion, IGI = Insulinogenic Index, Ins-release = Insulinfreisetzung

In der Gesamtkohorte ist die Wechselbeziehung zwischen der β -Zellfunktion im nüchternen Zustand (β -cell function-ln) und HCL sehr stark ausgeprägt ($p < 0,01$). Der FLI korreliert in beiden Untergruppen hochsignifikant mit der β -Zellfunktion ($p < 0,001$).

Sehr ähnlich verhält es sich mit der nüchternen Insulinfreisetzung (Ins-release-ln). In beiden Gruppen korreliert sie mit dem FLI ($p < 0,001$) und in der Gesamtkohorte besteht zudem eine Wechselbeziehung zwischen Insulinfreisetzung und HCL ($p < 0,01$).

Der **Disposition Index (DI)**, ein Maß für die β -Zellfunktion, welches die Insulinresistenz mit einbezieht, korreliert hochsignifikant mit HCL in der Gesamtgruppe und HCL und FLI in der LRA-Gruppe ($p < 0,001$).

Der **Adaptation Index (AI)** beschreibt vor allem die pankreatische Funktion. Er weist sowohl eine Korrelation mit dem FLI der Gesamtkohorte ($p < 0,001$) als auch mit dem FLI

der LRA-Gruppe ($p < 0,05$) auf. Die Korrelation zwischen HCL der Gesamtgruppe und dem AI erwies sich ebenfalls als bedeutsam ($p < 0,05$).

Zwischen dem **Insulinogenic Index (IGI_Ins-In)** und dem FLI konnte im Rahmen der durchgeführten Studie keine nennenswerte Korrelation ermittelt werden.

Die Messungen der **hepatischen Insulinextraktion (Hep_ Extr)** zeigte einen Unterschied zwischen Patienten mit und ohne Steatosis hepatis ($p < 0,001$). Zudem zeigte sich in der Gesamtkohorte eine auffällige negative Wechselbeziehung zwischen hepatischer Insulinextraktion und dem HCL ($p < 0,001$).

3.6 Assoziation des FLI mit der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion nach Angleichung von Alter, Geschlecht, HCL und LRA

Es wurde eine Adjustierung für Alter, Geschlecht, HCL und LRA vorgenommen. Ziel dieser Adjustierung war es herauszufinden, ob der FLI abhängig von Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht, HCL oder Alkoholkonsum ist.

Nach einer Adjustierung für Alter, Geschlecht und HCL (Modell-1) beziehungsweise einer Adjustierung für Alter, Geschlecht, HCL und LRA (Modell-2) korreliert der FLI weiterhin mit den Indices der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion, wie Tabelle 12 zu entnehmen ist.

Die in Modell-1 berechneten Werte für Gesamt- und LRA-Gruppe weisen keine Unterschiede hinsichtlich der Signifikanz auf.

Sowohl nach der Adjustierung in Modell-1 als auch nach der in Modell-2 besteht zwischen dem FLI und den Parametern der Insulinsensitivität OGIS, QUICKI und ISI_{comp} eine hochsignifikante umgekehrte Korrelation ($p < 0,001$).

Die Indices der β -Zellfunktion DI sowie der nüchternen β -Zellfunktion und der nüchternen Insulinfreisetzung korrelieren in beiden Modellen mit dem FLI und zeigen einen Unterschied zwischen Probanden mit und ohne Steatosis hepatis ($p < 0,001$) (s. Tabelle 12).

			Modell-1 Age,Sex,HCL		Modell-2 Age,Sex,HCL,LRA	
		Abhängige Variable	Schätzung (β)	Teilkorre- lation	Schätzung (β)	Teilkorre- lation
FLI_I	GK LRA	OGIS	-20,4*** -19,3***	-0,46 -0,42	-21,1***	-0,46
FLI_I	GK LRA	QUICKI	-0,02*** -0,01***	-0,45 -0,43	-0,02***	-0,46
FLI_I	GK LRA	ISI _{comp} _ln	-0,19*** -0,21***	-0,51 -0,55	-0,20***	-0,52
FLI_I	GK LRA	Disposition Index_ln	0,13*** 0,17***	0,41 0,51	0,14***	0,43
FLI_I	GK LRA	Adaptation Index	0,03** 0,03**	0,32 0,34	0,03**	0,33
FLI_I	GK LRA	nüchtern β-Zell- Function_ln	0,16*** 0,17***	0,56 0,62	0,16***	0,56
FLI_I	GK LRA	nüchtern Insulin Freisetzung_ln	0,16*** 0,18***	0,46 0,51	0,17***	0,47

Tabelle 12: Assoziation des FLI mit der Insulinsensitivität und β-Zellfunktion nach Angleichung von Alter, Geschlecht, HCL (Model-1) und zusätzlich LRA (Model-2)

*, p<0,05; **, p<0,01; ***, p<0,001;

Abkürzungen: FLI = Fatty Liver Index, GK = Gesamtkohorte; HCL = hepatozellulärer Lipidgehalt, ISI_{comp} = composite insulin sensitivity index (Matsuda Index), LRA = Niedriger Alkoholkonsum nach Klassifikation der WHO, OGIS = Oral Glucose Insulin Sensitivity Index, QUICKI = Qualitative Insulin Sensitivity Check Index

4 DISKUSSION

4.1 Vergleich mit Bedogni

Im Folgenden werden die erhobenen Daten mit den Ergebnissen von Bedogni et al. in der ursprünglichen Validierung des FLI verglichen und mögliche Ursachen für die unterschiedlichen Ergebnisse eruiert.

In der vorliegenden Arbeit erzielte der FLI eine geringere Sensitivität und Spezifität als in der von Bedogni et al. durchgeführten Validierung mittels Sonografie [8] und der erzielte AROC-Wert bestätigt dem FLI eine mittelmäßige Aussagekraft über das Vorliegen einer Steatosis hepatis.

Ursache für die abweichenden Ergebnisse bezüglich der Aussagekraft des Index könnte unter anderem die unterschiedlich zusammengesetzten Studienpopulationen sein. Zunächst ist zu erwähnen, dass es hinsichtlich der ethnischen Zusammensetzung des Probandenkollektivs keine Unterschiede gab. Das Kollektiv der Dionysos Nutrition & Liver Study, auf Basis welcher der FLI entwickelt wurde, ebenso wie das Kollektiv der in dieser Arbeit beschriebenen Studie bestand hauptsächlich aus kaukasischen Probanden [24]. Dies ist relevant, da es aufgrund von abweichendem Körperfettgehalt und Körperfettverteilung in den letzten Jahren zunehmende Forderungen nach ethniespezifischen Grenzwerten für den BMI gibt. Für die Bevölkerung des asiatischen und pazifischen Raumes gibt es bereits Ansätze der WHO für eine Anpassung der Grenzwerte des BMI [123; 124]. Bei der Dionysos Nutrition & Liver Study handelte es sich um eine Fall-Kontroll-Studie, dies bedeutet, dass jeweils ein gleichwertiger Proband mit und ohne Verdacht auf eine Lebererkrankung untersucht wurde [24]. Der Verdacht einer Lebererkrankung gründete sich dabei auf das Vorliegen mindestens einer der folgenden Kriterien:

- ALT > 30 U/L
- GGT > 35 U/L
- Positives Hepatitis-B-Virus-Oberflächenantigen (HbsAg)
- Nachweis von Hepatitis C-RNA und anti-HCV-Antikörpern.

Die Punktprävalenz der Steatosis hepatis in der Dionysos Nutrition & Liver Study war daher mit 46% [8] etwa doppelt so hoch wie die angenommene weltweite Prävalenz der

NAFLD von 25% [78] und etwa um den Faktor 2,5 höher als in der vorliegenden Arbeit, in der die Prävalenz bei 18 % lag.

Die Prävalenz des metabolischen Syndroms und des T2DM dürfte folglich in der Dionysos Nutrition & Liver Study ebenfalls höher gelegen haben, als in der Allgemeinbevölkerung, welche unserer Studie zugrunde lag.

4.2 Sonografie

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stellen die Aussagekraft der Sonografie als diagnostische Methode zur Detektion einer NAFLD in Frage. Die Sonografie eignet sich eher zur Diagnosestellung einer schwereren Steatosis hepatis mit einem HCL von $> 30\%$ [125]. Hier erzielt die Sonografie eine Sensitivität von 91%, während bei einem geringer ausgeprägten hepatischen Lipidgehalt von $< 30\%$ die Sensitivität der Sonografie lediglich bei 64% liegt [125]. Es ist davon auszugehen, dass eine Steatosis hepatis in der Sonografie erst in einem fortgeschrittenen Stadium sicher diagnostiziert wird und der FLI dann eine höhere Wertigkeit aufweist. Diese These unterstützten verschiedene Validierungen des FLI mittels Sonografie, in denen der FLI deutlich höhere AROC-Werte als in der vorliegenden Validierung mittels $^1\text{H-MRS}$ erzielte. Die Ergebnisse der verschiedenen Studien sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

Autor	Population	Land	Anzahl der Probanden	AROC
Koehler et al. [126]	Kaukasier	Niederlande	2652	0,813
Meffert et al. [127]	Kaukasier	Deutschland	4222	0,817
Meffert et al. [127]	Kaukasier	Deutschland	2177	0,890
Carvalhana et al. [128]	Kaukasier	Portugal	219	0,930

Tabelle 13: Validierung des FLI mittels Sonografie in unterschiedlichen Kohorten

4.3 Vergleich mit Cuthbertson et al. (2014)

Von Cuthbertson et al. wurde 2014 ebenfalls eine Validierung des FLI mittels ^1H -MRS durchgeführt. Ähnlich wie in der von Bedogni et al. untersuchten Studienpopulation handelte es sich um eine Fall-Kontroll-Studie, dazu wurden 168 Probanden mit einer NAFLD, sowie eine 168 Probanden umfassende Kontrollgruppe untersucht [28; 129]. Zu den Ausschlusskriterien zählten genau wie in der vorliegenden Arbeit ein diagnostizierter Diabetes mellitus Typ 1 oder 2, eine Lebererkrankung und Kontraindikationen für eine MRT-Untersuchung.

Über die ethnische Herkunft der Probanden wird von Cuthbertson et al. keine Aussage getroffen, da die Probanden in Forschungszentren der Universität Liverpool und Surrey (Großbritannien) und in Forschungseinrichtungen der Charité Berlin und am Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke (Deutschland) rekrutiert wurden [129], ist jedoch davon auszugehen, dass es sich überwiegend um kaukasische Probanden handelte.

Eine Steatosis hepatis wurde von Cuthbertson et al., ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit, als ein Leberfettgehalt von $> 5,5\%$ in der MRS-Untersuchung definiert [129].

In beiden Studien wurden ähnliche Ergebnisse hinsichtlich des durchschnittlichen hepatozellulären Fettgehaltes und des FLI erzielt, wie Tabelle 14 zu entnehmen ist.

Parameter		Cuthbertson et al.	Vorliegende Arbeit
HCL (Median)	keine Steatose	1,84%	1,33%
	Steatose	16,56%	13,63%
FLI (Median)	keine Steatose	18,77	19,6
	Steatose	56,21	49,4

Tabelle 14: HCL und FLI in der von Cuthbertson et al. durchgeführten Studie und der vorliegenden Arbeit im Vergleich [129]

Im Vergleich zur vorliegenden Arbeit erzielte der FLI im Rahmen der von Cuthbertson et al. durchgeführten Studie mit einem AROC-Wert von 0,79 und unter Anwendung der von Bedogni et al. festgelegten Cut-off-Werten mit einer Sensitivität von 0,75 und einer Spezifität von 0,91 ein besseres Ergebnis. Bei insgesamt sehr ähnlichen Studienbedingungen, abgesehen von der Zusammenstellung des Probandenkollektivs, ist die bessere Bewertung des FLI am ehesten durch die höhere Prävalenz der Steatosis hepatis innerhalb

des Probandenkollektivs bedingt [130]. Ähnlich wie bei Bedogni et al. lag die Prävalenz der NAFLD in der Kohorte von Cuthbertson bei 50%.

4.4 Veränderung des Grenzwertes für die Definition einer Steatosis hepatis in der ¹H-MRS

Es wurde versucht auf Basis der in der durchgeführten Studie erhobenen Daten die Aussagekraft des FLI, beziehungsweise den AROC-Wert, zu verbessern, indem der Grenzwert des hepatozellulären Lipidgehalts, der eine Steatosis hepatis definiert, angehoben wurde. Zunächst verbesserte sich der AROC-Wert des FLI. Ab einem Grenzwert von 7% zeigte sich keine weitere Verbesserung. Diese Beobachtung lässt vermuten, dass die Parameter, aus welchen der FLI berechnet wird, bereits frühzeitig verändert sind und sich bei einer Erhöhung des HCL über 7% keine weiteren Veränderungen verzeichnen lassen. Eindeutige Erkenntnisse über die frühzeitigen Veränderungen von GGT oder TG bei Patienten mit einer NAFLD gibt es in der aktuellen Literatur nicht.

Ziel dieser Arbeit war es, einen einzigen FLI-Grenzwert für die Definition einer Steatosis hepatis zu bestimmen, ohne Verwendung einer Grauzone, wie von Bedogni et al. vorgeschlagen.

Zur Bestimmung eines einzigen, optimalen Grenzwertes wird versucht, möglichst einen Kompromiss aus Treffer- und Fehlerquote zu finden. Zur Optimierung eines Index wird der Testwert mit dem höchsten Youden-Index bestimmt.

Der ermittelte, optimale Grenzwert für den FLI lag bei 29,2. Mit einem Youden-Index von 29,2 für den FLI konnte die Sensitivität des FLI auf 0,82 gesteigert werden. Die Spezifität betrug dann noch 0,67.

4.5 Korrelation des Fatty Liver Index mit Insulinresistenz und Insulinsekretion

Im Rahmen der Auswertung der Ergebnisse der durchgeführten Studie an 92 Probanden ohne Diabetes fiel ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem FLI und den Indices für Insulinresistenz und Insulinsekretion auf.

Um zu beweisen, dass der FLI unabhängig von Einflussfaktoren wie Alter, Geschlecht, HCL oder Alkoholkonsum Aussagen über die Insulinsensitivität und die β -Zellfunktion treffen kann, erfolgte eine entsprechende Adjustierung der Ergebnisse. Es zeigte sich, dass auch nach einer Angleichung von Alter, Geschlecht, HCL und Alkoholkonsum weiterhin eine Korrelation zwischen dem FLI und den Indices der Insulinsensitivität und der β -Zellfunktion besteht.

Nach der Adjustierung besteht zwischen dem FLI und verschiedenen Parametern der Insulinsensitivität eine umgekehrte Korrelation. Im Einzelnen zeigte sich eine umgekehrte Korrelation zwischen OGIS, QUICKI und ISI_{comp} .

Die Indices der β -Zellfunktion (DI) sowie der Nüchtern- β -Zellfunktion und der Nüchtern-Insulinfreisetzung wiesen ebenfalls eine Korrelation mit dem FLI auf.

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Nishi et al., welche anhand eines Kollektivs aus 967 japanischen Probanden feststellten, dass der FLI ein sinnvoller Indikator zur Ermittlung eines erhöhten T2DM-Risikos im Stadium des Prädiabetes darstellt und somit der FLI ein möglicherweise wichtiger Screening-Index ist [131].

Nach einer von Balkau et al. an 3811 kaukasischen nicht Diabetikern durchgeführten Untersuchung im Rahmen der französischen D.E.S.I.R. Studie steigt das Risiko für die Entstehung eines DMT2 bei einem $FLI \geq 70$ bei Männern um das 3,43-fache und bei Frauen sogar um das 11,05-fache im Vergleich zu Probanden mit einem $FLI \leq 20$ [132].

Bozkurt et al. konnten anhand von 97 Probandinnen zeigen, dass bei einem Gestationsdiabetes und einem $FLI \geq 60$ im Vergleich zu Probandinnen mit einem Gestationsdiabetes und einem $FLI \leq 20$ das Risiko für die Manifestation eines T2DM innerhalb der nächsten 10 Jahre um den Faktor 7,85 steigt [133].

Zusammenfassend legen diese Arbeit und einige weitere Studien nahe, dass der FLI als Parameter zur Abschätzung einer gestörten Insulinsensitivität und -sekretion im klinischen Alltag dienen kann.

4.6 FLI in weiteren Studien

Seit seiner Entwicklung im Jahre 2006 war der FLI Gegenstand vieler Studien und Korrelationsanalysen. Besonders erwähnenswert ist hier die Cremona Studie, in der in einer

15-jährigen Nachuntersuchungsperiode bei 2074 kaukasischen Probanden mittleren Alters eine Korrelation des FLI mit der leberassoziierten Mortalität (vor allem Leberzirrhose und HCC) nachgewiesen wurde [134]. Darüber hinaus konnte auch eine Assoziation des FLI mit der kardiovaskulären Mortalität und der nicht-leberassoziierten Krebssterblichkeit festgestellt werden. Die Korrelation zwischen leberassoziiertes, kardiovaskulärer und Krebsmortalität erwies sich dabei als unabhängig vom diabetischen Status, der Nüchtern-glukosekonzentration und dem Vorliegen eines metabolischen Syndroms [134].

Es zeigt sich somit, dass die Aussagekraft des FLI weit über das Vorliegen einer NAFLD hinausgeht.

4.7 HSI und NAFLD-LFS im Vergleich zum FLI

Im Rahmen der im Jahr 2011 durchgeführten Machbarkeitsstudie für die Nationale Kohorte erfolgte neben der in dieser Arbeit beschriebenen Validierung des FLI auch die Validierung des Hepatic Steatosis Index (HSI) und des NAFLD-Liver Fat Score (NAFLD-LFS) [122].

Index	AROC	Sensitivität	Spezifität
FLI	0,72	0,76	0,83
HSI	0,79	1,00	0,75
NAFLD-LFS	0,70	0,35	0,91

Tabelle 15: Aussagekraft von FLI, HSI und NAFLD-LFS im Vergleich (Angegebene Daten beziehen sich auf die Gesamtkohorte) [122]

Beim NAFLD-LFS und beim HSI ergaben sich, wie auch beim FLI, keine Unterschiede zwischen der Gesamtkohorte und der LRA-Gruppe.

Insgesamt zeigt sich, dass auch der HSI und der NAFLD-LFS in der Validierung mittel ¹H-MRS eine geringere diagnostische Wertigkeit aufweisen als in der ursprünglichen Validierung.

Der NAFLD-LFS wurde initial in einer Kohorte mit einer erhöhten Prävalenz für metabolische Störungen entwickelt [104]. Ähnlich wie beim FLI kann dies zu einer geringeren Aussagekraft in der Validierung von Kahl et al. geführt haben, welche basierend auf einer für die Allgemeinbevölkerung repräsentativen Kohorte durchgeführt wurde. Auch die

Kohorte, anhand welcher der HSI entwickelt wurde, unterscheidet sich maßgeblich von der von Kahl et al. analysierten Kohorte, da sie ausschließlich aus Asiaten bestand. Wie der FLI basiert auch der HSI mitunter auf dem BMI. Wie in Abschnitt 4.1. beschrieben, wird unter anderem von der WHO angeregt, für Asiaten und Kaukasier aufgrund der abweichende Körperfettverteilung unterschiedliche Grenzwerte für den BMI zu etablieren [103; 135]. Somit erscheint ein direkter Vergleich zwischen einer asiatischen und kaukasischen Population nicht valide.

Genau wie beim FLI wurden auch beim NAFLD-LFS und beim HSI optimale Cut-Off-Werte bestimmt. Auf Basis der erhobenen Daten wurde versucht, den Youden-Index zu maximieren. Dabei ergab sich für den NAFLD-LFS ein optimaler Cut-Off-Wert von -1,02 (Sensitivität: 0,59; Spezifität 0,89) und für den HSI ein Cut-Off-Wert von 35,0 (Sensitivität 0,76; Spezifität 0,70) [122].

Zudem zeigten auch NAFLD-LFS und HSI eine Korrelation mit den Parametern der Insulinsensitivität (QUICKI, OGIS, ISI_{comp}). Diese Korrelation blieb auch nach Angleichung von Alter, Geschlecht, HCL und LRA bestehen. Mit den Indices der β -Zellfunktion konnte, auch nach Angleichung von Alter, Geschlecht und HCL, eine Korrelation ermittelt werden [122].

Alles in allem ist die Aussagekraft der drei Indices in Hinblick auf die AROC-Werte relativ ähnlich. Der NAFLD-LFS scheint dem FLI und dem HSI jedoch unterlegen zu sein, da er auch nach Optimierung der Grenzwerte eine sehr geringe Sensitivität aufweist, was zu einer hohen Falsch-negativ-Rate führt und somit erkrankte Individuen möglicherweise nicht als solche erkannt werden. Der HSI weist nach Optimierung der Cut-Off-Werte eine ähnliche Sensitivität und Spezifität wie der FLI auf. Die beiden Indices können also als gleichwertig betrachtet werden.

4.8 Einfluss des Alkoholkonsums auf die Entstehung einer Steatosis hepatis

Unter den untersuchten Probanden wurden Probanden mit einem erhöhten Alkoholkonsum nicht von vorneherein ausgeschlossen.

Für die Kohorte von Probanden mit einem niedrigen Alkoholkonsum ergaben sich ähnliche Ergebnisse wie für die Probanden der Gesamtkohorte. Insgesamt gibt es wenige aktuelle Forschungsergebnisse zur Auswirkung von Alkohol auf die Ausbildung einer Steatosis hepatis.

Im Rahmen der Dionysos Nutrition & Liver Study stellten Bedogni et al. die These auf, dass zwischen Alkoholkonsum und Steatose kein Zusammenhang besteht. Diese durch Bedogni et al. aufgestellte These ist im Einklang mit den Ergebnissen dieser Arbeit, da sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen der Kohorte mit niedrigem und höherem Alkoholkonsum zeigte.

4.9 Schlussfolgerung

Der FLI erwies sich als mäßig guter Index zur Prädiktion einer Steatose. Er kann somit zum Screening herangezogen werden, eine ¹H-MRS-Untersuchung jedoch keinesfalls ersetzen. Interessanterweise erwies sich der FLI als guter Index zur Abschätzung einer möglichen Insulinresistenz und einer Funktionsstörung der β -Zellen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Roeb, E. and Steffen, HM. Deutsche Gesellschaft Für Gastroenterologie, Verdauungs- Und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) ‘Leitlinie Nicht-Alkoholische Fettlebererkrankung AWMF Register Nr. 021-025. January 2015.
- 2 Tannapfel A, Denk H, Dienes H, Langner C, Schirmacher P, Trauner M, Flott-Rahmel B. Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. 2011; 458(5):511–523.
- 3 Kacerovsky M, Roden M. Nichtalkoholische Fettleber. *Der Diabetologe*. 2007; 3(3):176–183.
- 4 Caldwell S, Argo C. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2010; 28(1):162–168.
- 5 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. 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 (Baltimore, Md.)*. 2012; 55(6):2005–2023.
- 6 Ma X, Holalkere N, Kambadakone R A, Mino-Kenudson M, Hahn PF, Sahani DV. Imaging-based quantification of hepatic fat: methods and clinical applications. *Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc.* 2009; 29(5):1253–1277.
- 7 Guiu B, Cercueil J. MRI as the new reference standard in quantifying liver steatosis: the need for international guidelines. *Gut*. 2012; 61(9):1369-70; author reply 1370-1.
- 8 Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, Tiribelli C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC gastroenterology*. 2006; 6:33.
- 9 Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, Clark JM. Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: a meta-analysis. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2011; 54(3):1082–1090.
- 10 Brunt EM. Pathology of fatty liver disease. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2007; 20 Suppl 1:S40-8.
- 11 Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, Hobbs HH, Dobbins RL. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2005; 288(2):E462-8.

- 12 EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of hepatology*. 2016; 64(6):1388–1402.
- 13 Lieber CS. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*. 2004; 34(1):9–19.
- 14 Gao B, Bataller R. Alcoholic liver disease: pathogenesis and new therapeutic targets. *Gastroenterology*. 2011; 141(5):1572–1585.
- 15 Mendenhall C, Roselle GA, Gartside P, Moritz T. Relationship of Protein Calorie Malnutrition to Alcoholic Liver Disease. A Reexamination of Data from Two Veterans Administration Cooperative Studies. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 1995; 19(3):635–641.
- 16 Mezey E. Interaction between alcohol and nutrition in the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Seminars in liver disease*. 1991; 11(4):340–348.
- 17 Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *Journal of hepatology*. 2010; 53(2):372–384.
- 18 Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2003; 37(5):1202–1219.
- 19 Ezzati M, editor. Comparative quantification of health risks. Global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. Geneva: World Health Organization.
- 20 Ohtsuka T, Tsutsumi M, Fukumura A, Tsuchishima M, Takase S. Use of Serum Carbohydrate-Deficient Transferrin Values to Exclude Alcoholic Hepatitis from Non-Alcoholic Steatohepatitis. A Pilot Study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2005; 29:236S–239.
- 21 Reynaud M, Schellenberg F, Loiseux-Meunier M, Schwan R, Maradeix B, Planche F, Gillet C. Objective Diagnosis of Alcohol Abuse. Compared Values of Carbohydrate-Deficient Transferrin (CDT), gamma-Glutamyl Transferase (GGT), and Mean Corpuscular Volume (MCV). *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2000; 24(9):1414–1419.
- 22 Kneeman JM, Misdraji J, Corey KE. Secondary causes of nonalcoholic fatty liver disease. *Therapeutic advances in gastroenterology*. 2012; 5(3):199–207.
- 23 Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *The New England journal of medicine*. 2002; 346(16):1221–1231.
- 24 Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2005; 42(1):44–52.

- 25 Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* (Baltimore, Md.). 2003; 37(4):917–923.
- 26 Laaksonen DE, Lakka H, Salonen JT, Niskanen LK, Rauramaa R, Lakka TA. Low Levels of Leisure-Time Physical Activity and Cardiorespiratory Fitness Predict Development of the Metabolic Syndrome. *Diabetes care*. 2002; 25(9):1612–1618.
- 27 The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. [Last accessed on 2011 June 11]. Available from: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf.
- 28 Alberti KGM, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *The Lancet*. 2005; 366(9491):1059–1062.
- 29 Aguilar M, Bhuket T, Torres S, Liu B, Wong RJ. Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*. 2015; 313(19):1973–1974.
- 30 John U, Hensel E, Ledemann J, Piek M, Sauer S, Adam C, Born G, Alte D, Greiser E, Haertel U, Hense H, Haerting J, Willich S, Kessler C. Study of Health in Pomerania (SHIP). A health examination survey in an east German region: Objectives and design. *Sozial- und Präventivmedizin SPM*. 2001; 46(3):186–194.
- 31 Schipf S, Alte D, Völzke H, Friedrich N, Haring R, Lohmann T, Rathmann W, Nauck M, Felix S, Hoffmann W, John U, Wallaschofski H. Prävalenz des Metabolischen Syndroms in Deutschland. Ergebnisse der Study of Health in Pomerania (SHIP). *Diabetologie und Stoffwechsel*. 2010; 5(03):161–168.
- 32 Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology* (Baltimore, Md.). 2010; 51(2):679–689.
- 33 Kerner W, Bruckel J. Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 2014; 122(7):384–386.
- 34 Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2010; 33 Suppl 1:S62-9.
- 35 Kerner W, Brückel J. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie und Stoffwechsel*. 2013; 8(S 02):S104-S107.
- 36 Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *The Lancet*. 2014; 383(9911):69–82.
- 37 Rathmann W, Scheidt-Nave C, Roden M, Herder C. Type 2 diabetes: prevalence and relevance of genetic and acquired factors for its prediction. *Deutsches Arzteblatt international*. 2013; 110(19):331–337.

- 38 Tamayo T, Brinks R, Hoyer A, Kuss OS, Rathmann W. The Prevalence and Incidence of Diabetes in Germany. *Deutsches Arzteblatt international*. 2016; 113(11):177–182.
- 39 Heidemann C, Du Y, Schubert I, Rathmann W, Scheidt-Nave C. Prevalence and temporal trend of known diabetes mellitus: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2013; 56(5-6):668–677.
- 40 Leahy JL. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Archives of medical research*. 2005; 36(3):197–209.
- 41 DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Medical clinics of North America*. 2004; 88(4):787-835, ix.
- 42 DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes care*. 2009; 32 Suppl 2:S157-63.
- 43 Haak T, Palitzsch K. *Diabetologie für die Praxis. Fallorientierte Darstellung ; Diagnostik und Therapie*. 1 ed. s.l.: Georg Thieme Verlag KG; 2012.
- 44 Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes. Pathogenesis and treatment. *The Lancet*. 2008; 371(9631):2153–2156.
- 45 Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes. Perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*. 2014; 383(9922):1068–1083.
- 46 Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2011; 34 Suppl 1:S62-9.
- 47 Kleinwechter H, Schäfer-Graf U, Bühner C, Hoesli I, Kainer F, Kautzky-Willer A, Pawlowski B, Schunck K, Somville T, Sorger M. Gestationsdiabetes mellitus (GDM). *Diabetologie und Stoffwechsel*. 2011; 6(05):290–328.
- 48 Stratton IM. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35). Prospective observational study. *BMJ*. 2000; 321(7258):405–412.
- 49 Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*. 2011; 94(3):311–321.
- 50 Engelgau MM. The Evolving Diabetes Burden in the United States. *Annals of Internal Medicine*. 2004; 140(11):945.
- 51 Kim C, Park J, Lee K, Kim J, Kim H. Fatty liver is an independent risk factor for the development of Type 2 diabetes in Korean adults. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*. 2008; 25(4):476–481.
- 52 Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2010; 28(1):155–161.

- 53 Bertolotti M, Lonardo A, Mussi C, Baldelli E, Pellegrini E, Ballestri S, Romagnoli D, Loria P. Nonalcoholic fatty liver disease and aging: epidemiology to management. *World journal of gastroenterology*. 2014; 20(39):14185–14204.
- 54 Frith J, Day CP, Henderson E, Burt AD, Newton JL. Non-alcoholic fatty liver disease in older people. *Gerontology*. 2009; 55(6):607–613.
- 55 Pan J, Fallon MB. Gender and racial differences in nonalcoholic fatty liver disease. *World journal of hepatology*. 2014; 6(5):274–283.
- 56 Ayonrinde OT, Olynyk JK, Beilin LJ, Mori TA, Pennell CE, Klerk N de, Oddy WH, Shipman P, Adams LA. Gender-specific differences in adipose distribution and adipocytokines influence adolescent nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2011; 53(3):800–809.
- 57 Roden M. Mechanisms of Disease: hepatic steatosis in type 2 diabetes--pathogenesis and clinical relevance. *Nature clinical practice. Endocrinology & metabolism*. 2006; 2(6):335–348.
- 58 Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, Orsak B, Finch J, Chang Z, Kochunov VG, Hardies J, Cusi K. Prevalence of prediabetes and diabetes and metabolic profile of patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Diabetes care*. 2012; 35(4):873–878.
- 59 Schwarz F, Roden M, Müssig K. Neues zur Pathobiochemie der diabetischen Dyslipidämie. *Der Diabetologe*. 2012; 8(7):550–555.
- 60 Dowman JK, Tomlinson JW, Newsome PN. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM: monthly journal of the Association of Physicians*. 2010; 103(2):71–83.
- 61 Kolb H, Mandrup-Poulsen T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. *Diabetologia*. 2010; 53(1):10–20.
- 62 Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nature reviews. Immunology*. 2008; 8(12):923–934.
- 63 Andreasen AS, Krabbe KS, Krogh-Madsen R, Taudorf S, Pedersen BK, Moller K. Human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Current medicinal chemistry*. 2008; 15(17):1697–1705.
- 64 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):1544–1560.
- 65 Sivitz WI, Yorek MA. Mitochondrial dysfunction in diabetes: from molecular mechanisms to functional significance and therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*. 2010; 12(4):537–577.
- 66 Wei Y. Nonalcoholic fatty liver disease and mitochondrial dysfunction. *World Journal of Gastroenterology*. 2008; 14(2):193.

- 67 Begriche K, Massart J, Robin M, Bonnet F, Fromenty B. Mitochondrial adaptations and dysfunctions in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2013; 58(4):1497–1507.
- 68 Sunny NE, Parks EJ, Browning JD, Burgess SC. Excessive hepatic mitochondrial TCA cycle and gluconeogenesis in humans with nonalcoholic fatty liver disease. *Cell metabolism*. 2011; 14(6):804–810.
- 69 Haas JT, Francque S, Staels B. Pathophysiology and Mechanisms of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Annual review of physiology*. 2016; 78:181–205.
- 70 Holland WL, Bikman BT, Wang L, Yuguang G, Sargent KM, Bulchand S, Knotts TA, Shui G, Clegg DJ, Wenk MR, Pagliassotti MJ, Scherer PE, Summers SA. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2011; 121(5):1858–1870.
- 71 Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, Herder C, Carstensen M, Krausch M, Knoefel WT, Schlensak M, Roden M. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell metabolism*. 2015; 21(5):739–746.
- 72 Baffy G, Brunt EM, Caldwell SH. Hepatocellular carcinoma in non-alcoholic fatty liver disease: an emerging menace. *Journal of hepatology*. 2012; 56(6):1384–1391.
- 73 Bedogni G, Bellentani S. Fatty liver: how frequent is it and why? *Annals of hepatology*. 2004; 3(2):63–65.
- 74 Hubscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology*. 2006; 49(5):450–465.
- 75 Brunt EM, Kleiner DE, Wilson LA, Belt P, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2011; 53(3):810–820.
- 76 Younossi ZM, Otgonsuren M, Henry L, Venkatesan C, Mishra A, Erario M, Hunt S. Association of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) with hepatocellular carcinoma (HCC) in the United States from 2004 to 2009. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2015; 62(6):1723–1730.
- 77 Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A, Capron F, Poynard T. Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2005; 128(7):1898–1906.
- 78 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 (Baltimore, Md.)*. 2016; 64(1):73–84.
- 79 Fleischman MW, Budoff M, Zeb I, Li D, Foster T. NAFLD prevalence differs among hispanic subgroups: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *World journal of gastroenterology*. 2014; 20(17):4987–4993.

- 80 Kallwitz ER, Daviglius ML, Allison MA, Emory KT, Zhao L, Kuniholm MH, Chen J, Gouskova N, Pirzada A, Talavera GA, Youngblood ME, Cotler SJ. Prevalence of suspected nonalcoholic fatty liver disease in Hispanic/Latino individuals differs by heritage. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2015; 13(3):569–576.
- 81 Marcos A, Fisher RA, Ham JM, Shiffman ML, Sanyal AJ, Luketic VA, Sterling RK, Fulcher AS, Posner MP. Liver regeneration and function in donor and recipient after right lobe adult to adult living donor liver transplantation. *Transplantation*. 2000; 69(7):1375–1379.
- 82 Lee JY, Kim KM, Lee SG, Yu E, Lim Y, Lee HC, Chung Y, Lee YS, Suh D. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in potential living liver donors in Korea: a review of 589 consecutive liver biopsies in a single center. *Journal of hepatology*. 2007; 47(2):239–244.
- 83 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2011; 34(3):274–285.
- 84 Stepanova M, Younossi ZM. Independent association between nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease in the US population. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2012; 10(6):646–650.
- 85 Ekstedt M, Franzen LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, Kechagias S. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2006; 44(4):865–873.
- 86 Brea A, Puzo J. Non-alcoholic fatty liver disease and cardiovascular risk. *International journal of cardiology*. 2013; 167(4):1109–1117.
- 87 Liu H, Lu H. Nonalcoholic fatty liver disease and cardiovascular disease. *World journal of gastroenterology*. 2014; 20(26):8407–8415.
- 88 Baumeister SE, Volzke H, Marschall P, John U, Schmidt C, Flessa S, Alte D. Impact of fatty liver disease on health care utilization and costs in a general population: a 5-year observation. *Gastroenterology*. 2008; 134(1):85–94.
- 89 Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2002; 17 Suppl:S186-90.
- 90 Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002; 123(5):1705–1725.
- 91 Newton JL. Systemic symptoms in non-alcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*. 2010; 28(1):214–219.
- 92 Kowdley KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, Sanyal AJ, Nelson JE. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2012; 55(1):77–85.

- 93 Weiss J, Rau M, Geier A. Non-alcoholic fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. *Deutsches Arzteblatt international*. 2014; 111(26):447–452.
- 94 Tannapfel A, Dienes H, Lohse AW. The indications for liver biopsy. *Deutsches Arzteblatt international*. 2012; 109(27-28):477–483.
- 95 Rockey DC, Caldwell SH, Goodman ZD, Nelson RC, Smith AD. Liver biopsy. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2009; 49(3):1017–1044.
- 96 Hamer OW, Aguirre DA, Casola G, Lavine JE, Woenckhaus M, Sirlin CB. Fatty liver: imaging patterns and pitfalls. *Radiographics: a review publication of the Radiological Society of North America, Inc.* 2006; 26(6):1637–1653.
- 97 Bydder GM, Chapman R, Harry D, Bassan L, Sherlock S, Kreel L. Computed tomography attenuation values in fatty liver. *Journal of Computed Tomography*. 1981; 5(1):33–35.
- 98 Kodama Y, Ng CS, Wu TT, Ayers GD, Curley SA, Abdalla EK, Vauthey JN, Charnsangavej C. Comparison of CT methods for determining the fat content of the liver. *AJR. American journal of roentgenology*. 2007; 188(5):1307–1312.
- 99 Pilleul F, Chave G, Dumortier J, Scoazec J, Valette P. Fatty infiltration of the liver. Detection and grading using dual T1 gradient echo sequences on clinical MR system. *Gastroenterologie clinique et biologique*. 2005; 29(11):1143–1147.
- 100 Rinella ME, McCarthy R, Thakrar K, Finn JP, Rao SM, Koffron AJ, Abecassis M, Blei AT. Dual-echo, chemical shift gradient-echo magnetic resonance imaging to quantify hepatic steatosis: Implications for living liver donation. *Liver transplantation: official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2003; 9(8):851–856.
- 101 Ma J. Dixon techniques for water and fat imaging. *Journal of magnetic resonance imaging: JMRI*. 2008; 28(3):543–558.
- 102 Poynard T, Ratziu V, Naveau S, Thabut D, Charlotte F, Messous D, Capron D, Abella A, Massard J, Ngo Y, Munteanu M, Mercadier A, Manns M, Albrecht J. The diagnostic value of biomarkers (SteatoTest) for the prediction of liver steatosis. *Comparative hepatology*. 2005; 4:10.
- 103 Lee J, Kim D, Kim HJ, Lee C, Yang JI, Kim W, Kim YJ, Yoon J, Cho S, Sung M, Lee H. Hepatic steatosis index: a simple screening tool reflecting nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2010; 42(7):503–508.
- 104 Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, Lundbom N, Rissanen A, Ridderstrale M, Groop L, Orho-Melander M, Yki-Jarvinen H. Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors. *Gastroenterology*. 2009; 137(3):865–872.

- 105 Abdul-Ghani MA, Jenkinson CP, Richardson DK, Tripathy D, DeFronzo RA. Insulin secretion and action in subjects with impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: results from the Veterans Administration Genetic Epidemiology Study. *Diabetes*. 2006; 55(5):1430–1435.
- 106 Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes care*. 2001; 24(3):539–548.
- 107 Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, van Haeften T, Renn W, Gerich J. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes care*. 2000; 23(3):295–301.
- 108 Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. Comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes care*. 1999; 22(9):1462–1470.
- 109 Tura A, Kautzky-Willer A, Pacini G. Insulinogenic indices from insulin and C-peptide: comparison of beta-cell function from OGTT and IVGTT. *Diabetes research and clinical practice*. 2006; 72(3):298–301.
- 110 Ahren B, Pacini G. Importance of quantifying insulin secretion in relation to insulin sensitivity to accurately assess beta cell function in clinical studies. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2004; 150(2):97–104.
- 111 Cook NR. Statistical evaluation of prognostic versus diagnostic models: beyond the ROC curve. *Clinical chemistry*. 2008; 54(1):17–23.
- 112 Hanley JA, McNeil BJ. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology*. 1982; 143(1):29–36.
- 113 Clopper CJ, Pearson ES. The Use of Confidence or Fiducial Limits Illustrated in the Case of the Binomial. *Biometrika*. 1934; 26(4):404.
- 114 YOUDEN WJ. Index for rating diagnostic tests. *Cancer*. 1950; 3(1):32–35.
- 115 Wichmann H, Kaaks R, Hoffmann W, Jockel K, Greiser KH, Linseisen J. The German National Cohort. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2012; 55(6-7):781–787.
- 116 Ahrens W, Jockel K. The benefit of large-scale cohort studies for health research: the example of the German National Cohort. *Bundesgesundheitsblatt, Gesundheitsforschung, Gesundheitsschutz*. 2015; 58(8):813–821.
- 117 World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013; 310(20):2191–2194.
- 118 Kim DL, Kim SD, Kim SK, Park S, Song KH. Is an Oral Glucose Tolerance Test Still Valid for Diagnosing Diabetes Mellitus? *Diabetes & metabolism journal*. 2016; 40(2):118–128.

- 119 Krebs M, Stingl H, Nowotny P, Weghuber D, Bischof M, Waldhausl W, Roden M. Prevention of in vitro lipolysis by tetrahydrolipstatin. *Clinical chemistry*. 2000; 46(7):950–954.
- 120 Nowotny B, Zahiragic L, Krog D, Nowotny PJ, Herder C, Carstensen M, Yoshimura T, Szendroedi J, Phielix E, Schadewaldt P, Schloot NC, Shulman GI, Roden M. Mechanisms underlying the onset of oral lipid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes*. 2013; 62(7):2240–2248.
- 121 Machann J, Thamer C, Schnoedt B, Stefan N, Haring H, Claussen CD, Fritsche A, Schick F. Hepatic lipid accumulation in healthy subjects: a comparative study using spectral fat-selective MRI and volume-localized ¹H-MR spectroscopy. *Magnetic resonance in medicine*. 2006; 55(4):913–917.
- 122 Kahl S, Strassburger K, Nowotny B, Livingstone R, Kluppelholz B, Kessel K, Hwang J, Giani G, Hoffmann B, Pacini G, Gastaldelli A, Roden M. Comparison of liver fat indices for the diagnosis of hepatic steatosis and insulin resistance. *PloS one*. 2014; 9(4):e94059.
- 123 Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet (London, England)*. 2004; 363(9403):157–163.
- 124 James WPT, Chunming C, Inoue S. Appropriate Asian body mass indices? *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2002; 3(3):139.
- 125 Palmentieri B, Sio I de, La Mura V, Masarone M, Vecchione R, Bruno S, Torella R, Persico M. The role of bright liver echo pattern on ultrasound B-mode examination in the diagnosis of liver steatosis. *Digestive and liver disease: official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2006; 38(7):485–489.
- 126 Koehler EM, Schouten JNL, Hansen BE, Hofman A, Stricker BH, Janssen HLA. External validation of the fatty liver index for identifying nonalcoholic fatty liver disease in a population-based study. *Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2013; 11(9):1201–1204.
- 127 Meffert PJ, Baumeister SE, Lerch MM, Mayerle J, Kratzer W, Volzke H. Development, external validation, and comparative assessment of a new diagnostic score for hepatic steatosis. *The American journal of gastroenterology*. 2014; 109(9):1404–1414.
- 128 Carvalhana S, Leitao J, Alves AC, Bourbon M, Cortez-Pinto H. How good is controlled attenuation parameter and fatty liver index for assessing liver steatosis in general population: correlation with ultrasound. *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver*. 2014; 34(6):e111-7.

- 129 Cuthbertson DJ, Weickert MO, Lythgoe D, Sprung VS, Dobson R, Shoaiee-Moradie F, Umpleby M, Pfeiffer AFH, Thomas EL, Bell JD, Jones H, Kemp GJ. External validation of the fatty liver index and lipid accumulation product indices, using ¹H-magnetic resonance spectroscopy, to identify hepatic steatosis in healthy controls and obese, insulin-resistant individuals. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2014; 171(5):561–569.
- 130 Bentley TGK, Catanzaro A, Ganiats TG. Implications of the impact of prevalence on test thresholds and outcomes: lessons from tuberculosis. *BMC research notes*. 2012; 5:563.
- 131 Nishi T, Babazono A, Maeda T, Imatoh T, Une H. Evaluation of the fatty liver index as a predictor for the development of diabetes among insurance beneficiaries with prediabetes. *Journal of diabetes investigation*. 2015; 6(3):309–316.
- 132 Balkau B, Lange C, Vol S, Fumeron F, Bonnet F. Nine-year incident diabetes is predicted by fatty liver indices: the French D.E.S.I.R. study. *BMC gastroenterology*. 2010; 10:56.
- 133 Bozkurt L, Gobl CS, Tura A, Chmelik M, Prikoszovich T, Kosi L, Wagner O, Roden M, Pacini G, Gastaldelli A, Kautzky-Willer A. Fatty liver index predicts further metabolic deteriorations in women with previous gestational diabetes. *PloS one*. 2012; 7(2):e32710.
- 134 Calori G, Lattuada G, Ragona F, Garancini MP, Crosignani P, Villa M, Bosi E, Ruotolo G, Piemonti L, Perseghin G. Fatty liver index and mortality: the Cremona study in the 15th year of follow-up. *Hepatology (Baltimore, Md.)*. 2011; 54(1):145–152.
- 135 Low S, Chin MC, Ma S, Heng D, Deurenberg-Yap M. Rationale for redefining obesity in Asians. *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*. 2009; 38(1):66–69.

DANKSAGUNG

Ich möchte mich bedanken bei Dr. med. Sabine Kahl und Dr. med. Bettina Nowotny für die Anregungen bei der Abfassung der Arbeit sowie die Betreuung in wissenschaftlichen Fragen.

Herrn Prof. Dr. med. univ. Michael Roden danke ich für die Überlassung des Themas und die konstruktive Kritik.

Frau Irena Latta und Herrn Peter Nowotny gilt mein Dank für die Einführung in die Probenverarbeitung und für die laborchemischen Auswertungen.

Dorothea Behler, Franziska Hinz und meiner Schwester Jennet danke ich für das Korrekturlesen und die Unterstützung.

Der größte Dank gilt meinen Eltern, die mich immer in allen Belangen unterstützen, für ihren Beistand und ihren Rückhalt.

