

Aus der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Professor Dr. Dieter Häussinger

**Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung:
Leberhistologie, klinische Charakteristika und
nicht-invasive Fibrosemarker in einer großen
deutschen Stichprobe**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Laurentiu Broscaru

2019

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

gez.:

Dekan:	Prof. Dr. med. Nicolaj Klöcker
Referent:	Prof. Dr. med. Claus Niederau
Korreferent:	Prof. Dr. med. Matthias Schauer

meiner Frau, Catinca

Zusammenfassung

Bei der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) ist der Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose ein wichtiges Ziel, da die Fibrose der Hauptprädiktor der Mortalität ist. In dieser retrospektiven Arbeit wurde eine große deutsche Patientenkohorte (299 Patienten) mit histologisch gesicherter NAFLD charakterisiert. Darüber hinaus wurden Risikofaktoren und prädiktive Modelle für eine fortgeschrittene Fibrose entwickelt und analysiert. Verschiedene in der Literatur beschriebene nicht-invasive Fibrose-Scores wurden in der jetzigen Patientenkohorte validiert. Außerdem wurde geprüft, wie gut die mit Hilfe der aktuellen Daten errechnete multivariate Regressionsanalyse eine fortgeschrittene Fibrose vorhersagen oder ausschliessen kann. Die Selektion der punktierten Patienten war eine individuelle klinische Entscheidung und nicht prospektiv festgelegt.

In der jetzigen Kohorte hatten etwa die Hälfte der leberpunktierten Patienten eine NASH ($\text{NAS} \geq 5$); eine fortgeschrittene Fibrose war bei 9% der Patienten nachweisbar. Ähnlich wie in aktuellen europäischen Studien korrelierten Alter, BMI und Typ 2 Diabetes mit einer fortgeschrittenen Fibrose. Nur eine Minderheit der Patienten mit fortgeschrittener Fibrose hatte keinen Diabetes bzw. keine Werte im Risikobereich für einen Diabetes. Mehrere Routine-Laborwerte wie Nüchtern-BZ, HbA1c, Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin sowie AST, GGT, Gesamtbilirubin, Thrombozyten, Quick und Albumin waren signifikant mit der fortgeschrittenen Fibrose assoziiert. Die nicht-invasiven Fibrosescores De Ritis-Quotient, APRI, FIB-4-Index, NFS und BARD waren signifikant mit der fortgeschrittenen Fibrose assoziiert, wobei der NFS- und der FIB-4-Score zum Ausschluss der Fibrose besser geeignet waren als die anderen Scores. Alle Scores waren besser geeignet für den Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose als für deren Diagnose.

Anhand einer multivariaten Regressionsanalyse wurden zwei neue nicht invasive Scores, die BMI, Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HbA1c und Quick berücksichtigten, entwickelt. Beide Scores zeigten bessere AUROC-Werte als die FIB-4- und NFS-Scores, die in den aktuellen Leitlinien bevorzugt werden. Die beiden neuen Scores könnten auch im klinischen Alltag nützlich und einfach anzuwenden sein. Weitere Studien zur Validierung dieser nicht-invasiven Marker in anderen Populationen sind aber erforderlich.

Abstract

In the non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) there is an important goal to exclude the advanced fibrosis, since the fibrosis is the main predictor of mortality. In this retrospective study a large german cohort of 299 patients with histologically confirmed NAFLD was characterised. Risk factors and predictive models for the advanced fibrosis were also developed and analysed. Several non-invasive fibrosis scores from the literature were validated in this cohort. Furthermore it was investigated how precisely could a multivariate regression analysis predict or exclude the advanced fibrosis. The selection of the patients who would undergo a liver punction was based on an individual clinical decision and not prospective established.

In the present cohort about a half of the patients had a NASH ($NAS \geq 5$); 9% of the patients had an advanced fibrosis. As in other current european studies, the age, the BMI and the type 2 diabetes correlated with the advanced fibrosis. Only a minority of the patients with advanced fibrosis didn't have diabetes or prediabetes. Laboratory values such as fasting glycemia, HbA1c, total as well as HDL and LDL cholesterol, AST, GGT, total bilirubin, thrombocytes, Quick prothrombin time and albumin were significantly associated with the advanced fibrosis. The non-invasive fibrosis scores De Ritis quotient, APRI, FIB-4-Index, NFS and BARD were significantly associated with the advanced fibrosis, with NFS and FIB-4-Index being more adequate for the exclusion of the advanced fibrosis. All scores were better in excluding the advanced fibrosis as in making this diagnosis.

Using a multivariate regression analysis to new non-invasive fibrosis scores including BMI, total and LDL cholesterol, HbA1c and Quick prothrombin time were developed. Both scores showed better AUROC values than FIB-4-Index and NFS, which are currently preffered in the guidelines. Both scores could be useful and easy to apply in the clinical daily routine. Further studies in other populations are required to validate these non-invasive fibrosis scores.

Abkürzungen

AAR	<i>AST/ALT-Ratio</i>	LDL	<i>High-Density-Lipoprotein</i>
ALT	<i>Alanin-Aminotransferase</i>	LPC	<i>Lysophosphatidyl-Cholin</i>
Apo	<i>Apolipoprotein</i>	MRE	<i>MR-Elastographie</i>
APRI	<i>AST/Thrombozyten-Ratio-Index</i>	MRT	<i>Magnetresonanztomographie</i>
AST	<i>Aspartat-Aminotransferase</i>	NAFLD	<i>Non-alcoholic fatty liver disease</i>
AUROC	<i>Area under the Curve</i>	NAS	<i>NAFLD-Aktivitätsscore</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i>	NASH	<i>Nicht-alkoholische Steatohepatitis</i>
BZ	<i>Blutzucker</i>	NEFA	<i>Nicht veresterte Fettsäure</i>
CK-18	<i>Cytokeratin-18</i>	NFS	<i>NAFLD Fibrosis Score</i>
CT	<i>Computertomographie</i>	NPV	<i>negative predictive value</i>
DAG	<i>Diacylglycerol</i>	OR	<i>Odds-Ratio</i>
DNL	<i>de novo Lipogenesis</i>	PCOS	<i>Das polyzystische Ovarialsyndrom</i>
ELF	<i>European Liver Fibrosis Panel</i>	PLA2	<i>Phospholipase A2</i>
FABP	<i>Fettsäuren-Bindungsprotein</i>	PPV	<i>positive predictive value</i>
FFS	<i>Freie Fettsäure</i>	RFN	<i>Rate falsch-negativer Ergebnisse</i>
FXR	<i>Farsenoid X Receptor</i>	ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
GGT	<i>Gamma-Glutamyltransferase</i>	ROS	<i>reactive oxygen species</i>
HbA1c	<i>Glykiertes Hämoglobin</i>	Se	<i>Sensitivität</i>
HCC	<i>Hepatozelluläres Carcinom</i>	SNP's	<i>single-nucleotide polymorphisms</i>
HDL	<i>High-Density-Lipoprotein</i>	Sp	<i>Spezifizität</i>
i. S.	<i>im Serum</i>	SREBP	<i>sterol regulatory element binding protein</i>
JNK	<i>c-Jun-N-terminale Kinase</i>	VCTE	<i>Vibration-kontrollierte transiente Elastographie</i>
LAP	<i>Lipid Accumulation Product</i>	VLDL	<i>Very-Low-Density-Lipoprotein</i>

Inhalt

Einleitung	1
I. Hintergrund	1
II. Epidemiologie	3
III. Natürlicher Verlauf	7
IV. Pathogenese	7
V. Diagnostik	11
VI. Prognosemarker der Krankheitsverlaufs	14
VII. Management der Krankheit.....	22
 Ziele der Arbeit	 26
Methodik	26
I. Studienablauf	26
II. Patientenauswahl	26
III. Angewandte Methoden	27
 Ergebnisse	 30
Diskussionen	71
Schlussfolgerungen	77
Bibliographie	78

Einleitung

I Hintergrund. Aktuelle Bedeutung von NAFLD und NASH

Um die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) zu beschreiben, wurden früher zahlreiche Begriffe benutzt wie Fettleberhepatitis, nicht-alkoholische Laënnec-Krankheit, Diabeteshepatitis, Alcohol-like Lebererkrankung oder nicht-alkoholische Steatohepatitis (NASH) [1]. Vor einigen Jahren schlug die Universitätsklinik Bern vor, die Erkrankung als metabolisches Syndrom assoziierte Fettlebererkrankung (*metabolic syndrome-associated fatty liver disease*, MAFLD) zu bezeichnen [2]. Ein anderer Vorschlag war, diese Entität “*nontriglyceride lipotoxic liver injury*“ oder “*lipotoxic liver injury*“ zu nennen [3]. Aktuell wird der Begriff nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) bevorzugt [4-6]. In den 2015 publizierten deutschen Leitlinien wird die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung als „Steatosis hepatis ohne signifikanten Alkoholkonsum oder andere Ursachen für eine sekundäre Steatose“ definiert. Ein signifikanter Alkoholkonsum entspricht dem täglichen Konsum von 10 g Alkohol bei Frauen und 20 g bei Männern [5]. In den europäischen Leitlinien wird eine tägliche Schwelle von 20 g bei Frauen und 30 g bei Männern angegeben [4]. Der Begriff NAFLD umfasst nach den aktuellen deutschen Leitlinien [5] „ein Spektrum von Lebererkrankungen, welche durch vermehrte Fettspeicherung in der Leber charakterisiert sind und von der alleinigen (bilden) Steatosis hepatis (nicht-alkoholische Fettleber, *nonalcoholic fatty liver* NAFL), über die nicht-alkoholische Fettleberhepatitis (*nonalcoholic steatohepatitis*, NASH), bis zur Cirrhose und hin zum hepatozellulären Karzinom (HCC) reichen“ [5].

Diese Definitionen der NAFLD, der NAFL und der NASH [5] unterscheiden sich nicht von denen der europäischen sowie nord-amerikanischen Leitlinien [4, 6]. Die NAFL und die NASH sind nur histologisch zu unterscheiden. Bei der NASH bestehen neben Steatose Entzündung und hepatozelluläres Ballooning mit oder ohne Fibrose [7].

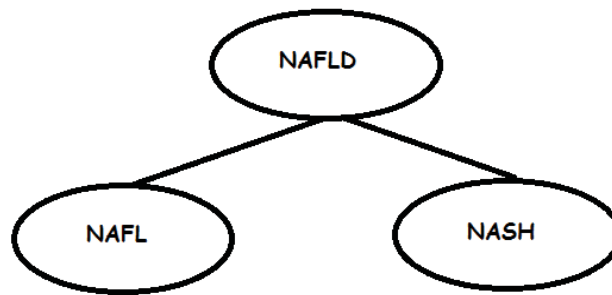


Abb. 1. NAFLD: nicht-alkoholische Fettlebererkrankung; NAFL: nicht-alkoholische Fettleber; NASH: nicht-alkoholische Steato-Hepatitis. Der Begriff NAFLD ist der Überbegriff und schließt die NAFL und NASH ein.

Die NAFLD ist durch eine Zunahme des Triglyzeridanteils in den Hepatozyten mit oder ohne Entzündung und Fibrose (Steatose bzw. Steatohepatitis) in der Abwesenheit einer identifizierbaren sekundären Ursache gekennzeichnet [8]. Die histologische Diagnostik beruht auf dem Nachweis von sichtbaren intrazellulären Triglyzeriden in mindestens 5% der Hepatozyten [9]. Die 2012 publizierte *AASLD Practice Guideline* beschränkt sich nicht nur auf den histologischen Beweis und weist dem sonographischen Befund eine genauso wichtige Rolle für die Diagnostik zu [7].

Die NAFLD wird in den letzten Jahren als die hepatische Komponente des metabolischen Syndroms betrachtet [10]. Die Anwesenheit von zytoplasmatischen Triglyzerid-Tröpfchen in mehr als 5% der Hepatozyten wird als hepatische Steatosis bezeichnet. Die Diagnose der NASH erfordert den zusätzlichen Nachweis eines entzündlichen Infiltrates und/oder einer Fibrose. Es ist noch umstritten, ob die NASH immer aus einer NAFLD hervorgeht oder ob die beiden Erkrankungen als unterschiedliche individuelle Entitäten zu betrachten sind. Nur die NASH ist mit dem Risiko für die Entwicklung von Cirrhose und hepatozellulärem Karzinom assoziiert [11].

Aktuelle Daten zeigen, dass die NAFLD die häufigste Ursache einer chronischen Lebererkrankung in den westlichen Ländern ist [12]. In verschiedenen Studien liegt die Prävalenz der NAFLD in der Gesamtbevölkerung bei 20-30% und in Kohorten von

Adipösen oder Diabetikern bei 70-90% [13]. Die NAFLD ist auch die häufigste Ursache einer Transaminasenerhöhung [14].

Die NAFLD birgt ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Diabetes mellitus, einer Dyslipidämie und einer arteriellen Hypertonie [15]. Die NAFLD ist eine wichtige Komponente des metabolischen Syndroms [16].

Während die NAFL eine gute Prognose hat, ist die NASH mit einem erhöhten Risiko für eine Lebercirrhose und ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) verknüpft. Da die NAFLD oft im Rahmen eines metabolischen Syndroms auftritt, haben die betroffenen Patienten auch ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre und mit dem Diabetes mellitus assoziierte Komplikationen [17]. Die NAFLD ist ein unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse und für den Diabetes mellitus Typ 2 [10].

II Epidemiologie

1 Inzidenz

Zur Inzidenz der NAFLD in der Allgemeinbevölkerung gibt es nur relativ wenige Studien. In zwei japanischen Studien betrug die NAFLD-Inzidenz 31 bis 86 Fälle pro 1,000 Personen-Jahren [18, 19]. Die in einer englischen ambulanten Einrichtung entstandenen Daten ergaben hingegen eine deutlich niedrigere Inzidenz von 29 Fälle pro 100,000 Personen-Jahren [20].

2 Prävalenz

Es wird geschätzt, dass die aktuelle Prävalenz der NAFLD weltweit bei 25% liegt, in Afrika bei nur 14% und bis zu 32% im mittleren Osten. In den westlichen Ländern wird eine Prävalenz von 17-46% beschrieben [6]. In einer koreanischen Studie zeigten Leberbiopsien eine NAFLD-Prävalenz von 51% bei 589 potentiellen Leberspendern [21]. Eine sonographisch diagnostizierte NAFLD wurde in Spanien bei 33% der Männern und 20% der Frauen gefunden [22]. Die sonographische NAFLD-Prävalenz betrug in Italien 20 bis 25% [23]. In der *Dallas Heart* Studie zeigte die MRT-Spektroskopie eine NAFLD-Prävalenz von 31% [24]. Die Prävalenz der NASH liegt mit 1,5 - 6,5% deutlich niedriger als die Prävalenz der NAFLD [6]. In einer kanadischen Obduktionsserie lag die Prävalenz der NASH bei 3% [20]. Die Prävalenz der NASH-Cirrhose in der Gesamtbevölkerung ist nicht genau bekannt [7].

3 Risikofaktoren für NAFLD und NASH

In der letzten Dekade wurden weltweit mehrere Querschnittsstudien durchgeführt, um wichtige Risikofaktoren für die NAFLD und die NASH zu identifizieren. In einer italienischen Populationsstudie (*The Dionysos Nutrition and Liver Study*) wurden Adipositas, Hyperglykämie, Hyperinsulinämie, Hypertriglyzeridämie und systolische arterielle Hypertonie als Risikofaktoren identifiziert [23].

3.1 Alter

Mehreren Studien zufolge ist ein höheres Alter mit einer erhöhten Prävalenz der NAFLD und der NAFLD-assoziierten Fibrose verbunden. Darüber hinaus haben ältere Patienten eine höhere Wahrscheinlichkeit für die Progression der Krankheit. Diabetes mellitus Typ 2, fortgeschrittene Fibrose und hepatozelluläres Carcinom treten häufiger bei älteren NAFLD-Patienten auf. Auf der anderen Seite haben ältere Patienten oft auch mehrere NAFLD-Risikofaktoren wie Dyslipidämie, Adipositas, Diabetes und arterielle Hypertonie. Im Hinblick auf diese Tatsache ist die Assoziation zwischen dem Alter und der Prävalenz der NAFLD-Komplikationen eher der Krankheitsdauer als dem Alter an sich zuzuordnen [14].

3.2 Geschlecht

Das männliche Geschlecht ist mit einer höheren Prävalenz der NAFLD, erhöhten Transaminasen, histologisch gesicherter NASH, hepatischer Fibrose und Gesamtmortalität assoziiert als das weibliche [14].

3.3 Ethnizität

Aktuelle Daten zeigen, dass die NAFLD-Prävalenz in der hispanischen Bevölkerung besonders hoch ist, gefolgt von der kaukasischen Bevölkerung. Die niedrigste Prävalenz konnte bei Afroamerikanern beobachtet werden. Diese Unterschiede lassen sich zum einen über unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten und zum anderen über genetische Faktoren erklären. Die NAFLD weist eine genetische Komponente auf. Das I148M-Allel des PNPLA3-Gens codiert das Adiponutrin, das einen Einfluss auf die Entstehung und den Verlauf von Fettlebererkrankungen hat. Bei G/G-Homozygoten ist der hepatische Fettgehalt gegenüber dem Wildtyp (C/C) um das Doppelte erhöht; die G/G-Prävalenz ist in der hispanischen Bevölkerung höher als in der kaukasischen und afroamerikanischen [14]. Polymorphismen des S453I-Allels, die mit einem deutlich

niedrigen Fettgehalt assoziiert sind, findet man hingegen in der afroamerikanischen Bevölkerung häufiger als in der kaukasischen und hispanischen [14].

3.4 Das metabolische Syndrom

Der Diabetes mellitus Typ 2 geht sehr häufig mit einer NAFLD einher. In einer Studie mit Typ 2 Diabetes-Patienten hatten 69% der Patienten sonographische Hinweise auf eine NAFLD [25]. In einer anderen Studie hatten 87% der Typ 2-Diabetiker sonographische Hinweise auf eine NAFLD, die dann auch histologisch bestätigt wurde [26]. Eine große Metaanalyse mit mehr als 35.000 Typ 2-Diabetes-Patienten zeigte eine mittlere Prävalenz der NAFLD von 59,7% mit einer Spannweite zwischen 29,6% und 87,1% [27]

Da die bariatrische Chirurgie in den letzten Jahrzehnten zunehmend an Bedeutung gewonnen hat, gibt es jetzt viele Daten und histologische Befunde von sehr adipösen Patienten, die durch die bariatrische Chirurgie behandelt wurden. Von den operierten adipösen Patienten hatten 93% eine NAFLD [28]. Von den NAFLD-Patienten hatten 26% eine NASH und 9% eine fortgeschrittene Fibrose [28]. In einer anderen Studie aus den USA hatten 20-25% der NAFLD-Patienten eine NASH und von den NASH-Patienten entwickelten 20% eine Cirrhose [29].

In westlichen Ländern sind NAFL, NAFLD und NASH bei normalgewichtigen Menschen selten, während dies vor allem in einigen asiatischen Ländern anders aussieht. In einer indischen Studie hatten 75% der Patienten mit NAFL einen BMI < 25 kg/m² [30].

Die Schwere der Fibrose war bei NASH-Patienten mit der zentralen Adipositas assoziiert [31].

Die Prävalenz der Dyslipidämie bei NAFLD-Patienten schwankt zwischen 20 und 92%. Umgekehrt hat ungefähr die Hälfte der Patienten mit Dyslipidämie im Ultraschall eine NAFLD. Die Hypertriglyzeridämie ist eher als die Hypercholesterinämie mit einem hohen NAFLD-Risiko assoziiert [1].

Das polyzystische Ovarialsyndrom (PCOS), die ovarielle Komponente des metabolischen Syndroms, ist auch mit der NAFLD und der NASH assoziiert [32].

Da die meisten NAFLD-Patienten die diagnostischen Kriterien des metabolischen Syndroms erfüllen, kann man schon aufgrund dieser Assoziation davon ausgehen, dass die NAFLD-Patienten ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Krankheiten aufweisen. In einer italienischen Querschnittsstudie wurde gezeigt, dass die Prävalenz von KHK,

cerebrovaskulären Krankheiten und pAVK unter Diabetespatienten mit NAFLD höher ist als bei denen ohne NAFLD, unabhängig von Diabetesdauer, glykämischer Kontrolle oder anderen Komponenten der metabolischen Syndroms [33].

3.5 Der Nikotinabusus

In einer großen Kohortenstudie ging der Nikotinabusus mit einem erhöhten Risiko für eine ausgeprägte Fibrose einher [34].

3.6 Familiäre Häufung

Eine familiäre Häufung von NASH und cryptogener Cirrhose wurde beschrieben [1].

3.7 Fettlebererkrankungen vor der Pubertät

Präpubertäre Kinder mit Fettlebererkrankungen weisen oft eine histologisch ausgeprägtere portale Inflammation, Steatose und Fibrose auf als die Personen, die sich in oder nach der Pubertät finden [35]. Es wurde vermutet, dass die Sexual-Hormone für dieses Phänomen eine Rolle spielen [35].

3.8 Chronische Infektionskrankheiten

Die hepatische Steatosis von Patienten mit Hepatitis C Virus (HCV)- oder HIV-Infektion wird üblicherweise nicht als NAFLD bezeichnet [4-6]. Bis zu 50% der HCV-Patienten haben eine Leberverfettung, vor allem die mit HCV-Genotyp 3; hier spielt HCV eine spezifische Rolle [4-6]. Viele der mit HAART (hochaktive antiretrovirale Therapie) behandelten HIV-Patienten entwickeln eine hepatische Steatosis [14].

III Natürlicher Krankheitsverlauf

Die histologische Unterteilung in NASH und NAFL hat sich bewährt, da in aller Regel nur die NASH-Patienten eine rasche Krankheitsprogression haben [36]. Die Patienten mit NAFL zum Diagnosezeitpunkt zeigen keine oder eine sehr langsame Progression [36]. Die möglichen Komplikationen der NASH sind von den Komplikationen der alkoholischen Steatohepatitis (ASH) nicht abzugrenzen: Fibrose, Cirrhose, Komplikationen der Cirrhose und hepatocelluläres Carcinom (HCC) [36].

Die ehemalige cryptogene Cirrhose wird heute als *burned-out* oder *end stage* NASH anerkannt. Die histologischen Merkmale der NASH gehen in der Regel parallel mit der Entwicklung der Cirrhose verloren und erschweren eine nachträgliche ätiologische Zuordnung [14]. Es wurde aber gezeigt, dass residuelle Veränderungen in der cryptogenen Cirrhose mit einer NASH vereinbar sind [37].

40-60% der Patienten mit einer NASH-Cirrhose entwickeln während einer Nachbeobachtung von 5-7 Jahren eine Komplikation der Cirrhose und 4-27% der o. g. Patienten entwickeln ein HCC. Während einer Beobachtungszeit von bis zu 19,5 Jahren betrug die HCC-Inzidenz bei NAFLD nur 0-0,5%, während sie bei NASH bis zu 2,8% war [38]. Unter Patienten mit NAFLD war die hepatische Krankheit die dritthäufigste Todesursache [14]. In einer Studie aus den USA war die Mortalität der NAFLD-Patienten nach 7,6 Jahren Beobachtung 1,3-fach höher als die in der vergleichbaren Allgemeinbevölkerung; auch hier waren viele Sterbefälle hepatisch bedingt [15].

Wie oben erwähnt ist die NAFLD ein Risikofaktor für das metabolische Syndrom und für die damit verbundenen kardiovaskulären Komplikationen [33]. In vielen NAFLD-Studien ist die Mortalität eher von den kardiovaskulären Komplikationen geprägt und weniger von den Komplikationen der Lebererkrankung [13].

IV Pathogenese

Die Pathogenese der NAFLD ist bis heute unzureichend verstanden. Es handelt sich um eine vermehrte Speicherung von Triglyzeriden in Hepatozyten, die bei manchen Personen eine Entzündung und Fibrose hervorruft [11].

Evolutionär gesehen haben sich die Triglyzeride aufgrund des hohen Kaloriengehalts (9 kcal/g) und der fehlender Wasserlöslichkeit als ein guter Depot-Nährstoff bewährt [11]. Bei höher entwickelten Organismen werden die Triglyzeride physiologisch vorwiegend

in Adipocyten gespeichert [11]. Eine Ausnahme sind die Zugvögel, die vor den langen Flugreise Triglyzeride auch in den Leberzellen speichern [11]. Auch Menschen können bei hoher Kalorienzufuhr Triglyzeride in den Leberzellen speichern, allerdings ist dieser Prozess nicht physiologisch [11]. Die hepatische Steatosis entspricht beim Menschen einem gestörten Gleichgewicht zwischen der Aufnahme und der Freisetzung der Triglyzeride [11].

Mehreren Studien zufolge nehmen NAFLD-Patienten insgesamt mehr Fett, insbesondere gesättigtes Fett, mehr Produkte mit einem hohen glykämischen Index sowie mehr alkoholfreie Getränke auf. Viele dieser alkoholfreien Getränke enthalten Fruktose, die in der Leber nicht in Glukose sondern in Fettsäuren umgebaut wird [11]. Neben ebenfalls nachgewiesenen genetischen Faktoren werden diese Ernährungsfehler für die Fettakkumulation in der Leber verantwortlich gemacht [10]. Die hepatische *de novo* Lipogenese ist deutlich verstärkt bei Patienten mit NAFLD. In der Fettleber findet sich ein Überschuss von gesättigten Fettsäuren und von Triglyzeriden, die gesättigte Fettsäuren enthalten [10].

Insulin kann bei gesunden Menschen die Glukogenese und die VLDL-Produktion hemmen. Bei der NAFLD ist diese hemmende Wirkung des Insulin herabgesetzt und es kommt so zu einer Insulinresistenz mit konsekutiver Hyperinsulinämie und Hypertriglyzeridämie sowie Erniedrigung des HDL-Cholesterins [10]. Die Insulinresistenz des Fettgewebes geht unabhängig von Adipositas mit einem erhöhten Leberfettgehalt einher. Der Mechanismus hierfür ist nicht bekannt, die Makrophageninfiltration und eine erhöhte Ceramid-Konzentration könnten aber eine Rolle spielen [10]. Die hepatische Insulinresistenz ist am ehesten dem hepatischen Diacylglycerol-Gehalt zuzuschreiben, der die Insulinsignalwege behindert [10].

Ein Versuch, die NASH-Pathogenese besser zu beschreiben, war die Hypothese der zwei Schläge (*two hits*) [39].

Im ersten Schritt (*first hit*) führt die periphere Lipolyse, die vom Insulin unzureichend gehemmt wird, zur Freisetzung von Glycerol und nicht veresterten Fettsäuren (NEFA) [10]. Eine gesteigerte hepatische *de novo* Lipogenese liegt auch vor. Unabhängig davon werden exogene Fette aufgenommen. Diese werden in den Chylomicronen eingebaut und in der Leber gelagert, wo sie zusammen mit dem Apolipoprotein B100 (ApoB100) in VLDL (*very low density lipoproteins*) umgebaut werden. Der Fettüberschuss wird in der Leber entweder oxidiert oder als VLDL in die Blutbahn freigesetzt. Aufgrund einer mitochondrialen Fehlfunktion werden die NEFA nicht effizient oxidiert. Die

ungenügende Steigerung der ApoB100-Sekretion beschränkt den VLDL-Export [10]. Im zweiten Schritt (*second hit*) führt die Lipotoxizität zur zellulären Dysfunktion, die vom NEFA-Überschuss induziert wird. Folgen der Lipotoxizität sind eine verstärkte Expression der proinflammatorischen Cytokine, eine Inhibition der mitochondrialen β -Oxidation sowie die Apoptose in Hepatozyten.

Die *two-hit* Hypothese ist heute obsolet, da sie die vielfältigen molekularen und metabolischen Veränderungen bei der NAFLD nicht erklären kann. Heute wird deshalb eine *multiple hit* Hypothese angenommen, die die Insulinresistenz, adipogene Hormone, Ernährungsfaktoren, das Darmmicrobiom und genetische Faktoren einschließt [40].

Der Leberschaden bei NAFLD und NASH könnte zum Teil einem gestörten Gleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Adipokinen zugeschrieben werden. Die Adipokine (Adiponectin, Leptin, Resistin) und die Cytokine (TNF-alpha, IL-6, IL-1 β) werden synthetisiert in den Hepatozyten oder in den inflammatorischen Zellen, die in den Fettgeweben zu finden sind [10]. Adiponectin hat anti-inflammatorische Eigenschaften und sein Plasmaspiegel ist bei NAFLD-Patienten niedrig. Erhöhte Spiegel an TNF-alpha, Leptin und Resistin tragen zur Inflammation und Fibrose bei [10]. Nicht nur die initiale Entstehung der NASH, sondern auch der Übergang zur Fibrose könnte teilweise durch TNF-alpha vermittelt sein [41]. Die Insulinresistenz mit begleitender Hyperglykämie und Hyperinsulinämie können die Fibrogenese durch Hochregulation von Wachstumsfaktoren fördern [10].

Die Hypothese der nicht Triglyzerid-assoziierten Lipotoxizität (nontriglyceride lipotoxicity) vermutet, dass die Triglyzerid-Akkumulation eher ein Begleitphänomen ist. Nach dieser Hypothese sind Metabolite der Fettsäuren die primäre Faktoren in der NASH-Pathogenese.

Die verminderte Triglyzerid-Freisetzung könnte theoretisch zur Lipotoxizität beitragen. Bei gesunden Menschen wird eine lineare Steigerung der VLDL-Sekretion mit der Steigerung des intrahepatischen Triglyzerid-Gehalts beobachtet, bei NAFLD-Patienten ist die VLDL-Sekretion hingegen ab einem gewissen Plateau nicht mehr adäquat zum Triglyzeridgehalt. Adipöse Patienten mit normalem intrahepatischen Triglyzerid-Gehalt entwickeln keine Adipositas-assoziierten metabolischen Komplikationen [8]. Auf der anderen Seite wird eine nicht-steatotische Lipotoxizität beschrieben. Die Lipotoxizität kann also auch unabhängig von der Triglyzerid-Speicherung entstehen [3].

Es wird zunehmend angenommen, dass die Speicherung der Fetttröpfchen nicht die Ursache der geänderten Insulinsignalwege sondern lediglich ein Begleit-Phänomen ist.

Es scheint, dass die Fetttröpfchen eine eher protektive Rolle spielen im Sinne einer Reduktion der Lipotoxizität, die die Metaboliten der Fettsäuren hervorrufen [3].

Die exzessive orale Aufnahme von Kohlenhydraten aktiviert die *de novo* Lipogenesis (DNL). Sehr wichtig für die DNL ist die Fructose, die als Quelle für Acetyl-CoA dient. Der Fructose-Konsum und die fortgeschrittene NASH sind signifikant assoziiert [3].

Die Insulinresistenz führt zur verstärkten Lipolyse, die wiederum die Freisetzung von freien Fettsäuren (FFS) zur Folge hat, die von der Leber nicht adäquat abgebaut werden können [3]. Die FFS begünstigen die Lipotoxizität eher indirekt, z. B. durch die Überexpression der Fettsäuren-Bindungsproteine (FABP). Es ist unklar, ob die FFS oder ihre Metaboliten den Zellschaden verursachen. FFS sind Aktivierungsliganden für den *toll-like* Rezeptor-4, der die Kaskade der Apoptose aktiviert. FFS führen zu einer inadäquaten Freisetzung von Cathepsin B durch direkte Destabilisierung der lysosomalen Membranen und tragen damit zur Aktivierung der Apoptose bei [3]. Die Lipotoxizität wurde auch auf die Synthese des Acyl-Coenzyms A zurückgeführt, was zur Schlüsselrolle der FFS-Metabolite passt [3]. Diacylglycerol (DAG) ist ein Aktivierungsligand der meisten Isoformen der Proteinkinase C. DAG spiegelt den gesteigerten FFS-Verkehr durch die Leber wider [3].

Lysophosphatidyl-Cholin (LPC) wird durch die Wirkung von Phospholipase A2 (PLA2) auf Lecithin gebildet. LPC wirkt lipotoxisch mit der Hilfe eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors [3]. LPC wird als Effektor in der hepatozytären Lipoapoptose betrachtet. Die mögliche therapeutische Rolle der PLA2-Inhibitoren basieren auf diesem Mechanismus [42].

SCD-1 (*stearoyl-CoA desaturase-1 enzyme*) bewirkt die Entsättigung der FFS und begünstigt die Aufbau der Triglyzeride und die Vermeidung der Lipotoxizität [3].

SREBP-1c (*sterol regulatory element binding protein*) induziert die Expression der für die DNL zuständigen Enzyme. Eine SREBP-1c-Überexpression begünstigt die Lipotoxizität [3].

FXR (*Farsenoid X Receptor*) ist ein hepatischer nukleärer Rezeptor und regelt den Stoffwechsel der Fettsäuren und der Fette [43]. Eine niedrige FXR-Expression entspricht einer hohen SREBP-1c-Expression, die mit einer fortgeschrittenen Steatose bei NAFLD-Patienten einhergeht [44].

Die mitochondriale β -Oxidation verhindert die Lipotoxizität. Eine mitochondriale Dysfunktion ist häufig mit der NASH assoziiert. Die peroxisomale β -Oxidation und die

Oxidation via der CYP4A-Enzyme sind alternative Oxidationswege. Alle Oxidationswege werden durch den nukleären Rezeptor PPAR alpha reguliert [3].

Die Rolle des oxidativen Stresses in der Pathogenese der NASH bleibt umstritten. Andere Prozesse wie der apoptotische Zelltod und die Aktivierung von Kaspasen und c-Jun-N-terminalen Kinasen (JNK) erscheinen wichtiger [3].

Im endoplasmatischen Retikulum wird die Antwort auf ungefaltete Proteine (*unfolded protein response*) als Adaptationsreaktion gegenüber Stress angesehen. Dadurch kann aktiviert werden JNK (*c-Jun N-terminal Kinase*), die zur Insulinresistenz beiträgt [8]. JNK-1 begünstigt die NASH-Entstehung [45].

Die genetische Prädisposition spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese von NAFLD und NASH. Das I148M-Allel des PNPLA3-Gens codiert das Adiponutrin, das einen Einfluss auf die Entstehung und den Verlauf von Fettlebererkrankungen hat. Bei G/G-Homozygoten ist der hepatische Fettgehalt gegenüber dem Wildtyp (C/C) um das Doppelte erhöht [11]; die G/G-Prävalenz ist in der hispanischen Bevölkerung höher als in der kaukasischen und afroamerikanischen [14]. Polymorphismen des S453I-Allels, die mit einem deutlich niedrigeren Fettgehalt assoziiert sind, findet man hingegen in der afroamerikanischen Bevölkerung häufiger als in der kaukasischen und hispanischen [14].

Bestimmte SNPs (single nucleotide polymorphisms) im Apolipoprotein C3-Gen (APOC3) (APOC3-Allele C-482T und T-455C) prädisponieren nicht adipöse Personen für die Entwicklung einer NAFLD mit begleitender Insulinresistenz [46].

Signifikante Unterschiede in der Pathogenese der NASH wurden zwischen der lateinamerikanischen und der nicht-lateinamerikanischen weißen Population beobachtet. Die Latinoamerikaner entwickelten früher eine NASH und wiesen mehr Inflammation in den Biopsiepräparaten auf [47].

V Diagnostik

1 Die **Klinik** der NAFLD oder der NASH ist unspezifisch, viele Patienten haben gar keine Beschwerden. Bei fortgeschrittener Lebererkrankung wird das klinische Bild dann von den Komplikationen der Lebercirrhose geprägt [1].

Die Verdachtsdiagnose stellt sich bei Patienten mit Transaminasenerhöhung, sonographischen Befunden einer echoverdichteten Leber und einer Hepatomegalie [1].

2 Labor

Bei NAFLD sind AST und ALT leicht- bis mittelgradig erhöht. Das AST/ALT-Quotient liegt meistens unter 1 [1].

Der obere ALT-Normgrenzwert ist laborabhängig. Die Lebererkrankung scheint durch einen oberen ALT-Grenzwert von 40 U/L besser diagnostiziert zu werden als durch die verschiedenen laborabhängigen Grenzwerte [48].

Die Gamma-Glutamyltransferase (GGT) und seltener auch die alkalische Phosphatase sind bei vielen NAFLD-Patienten erhöht, allerdings in geringerem Umfang als bei der alkoholischen Fettleberhepatitis [1].

3 Bildgebende Verfahren

Die Sonographie hat eine Sensitivität von 89% und eine Spezifität von 93% bei der Diagnose der Leber-Steatosis. Die Steatosis zeigt sich sonographisch als eine diffuse Hyperechogenität im Vergleich mit der Echogenität der Nierenrinde. In CT- und MRT-Untersuchungen kann eine Fettleber auch verlässlich erkannt werden; diese Verfahren eignen sich aber wegen der Strahlenbelastung und des Aufwands nicht für die klinische Routine der Fettleberdiagnostik. Die MR-Spektroskopie ermöglicht eine quantitative Messung der Fettinfiltration in der Leber [1].

4 Histologie

Die Bestätigung der Diagnose und der Schweregrad der NAFLD werden alleine durch eine Leberbiopsie gewährleistet. Empfehlungen zum richtigen Zeitpunkt der Leberbiopsie wurden publiziert [5-7, 16]. Kontraindikationen und möglichen Komplikationen müssen beachtet werden [49]. Die Beurteilung der Biopsien ist bei spezialisierten Hepatopathologen verlässlicher als bei Allgemeinpathologen [50]. Histologisch kann man eine nicht alkoholische nicht von einer alkoholischen Fettleber unterscheiden [1].

Eine erste allgemein anerkannte [4-6] histologische Diagnostik wurde von Brunt et al. ausgearbeitet [51]:

- Grading 1-3 für die Steatose
- Grading 1-3 für die NASH
- Staging 1-4 für die Fibrose

Eine Variante der NASH-Diagnostik wurde vom NASH-Clinical Research Network entwickelt [52]:

- Steatose Grad 0-3
- Steatose zonaler Lokalisation Grad 0-3
- Ballooning Grad 0-2
- Lobuläre Inflammation Grad 0-2
- Chronische portale Inflammation Grad 0-2
- Fibrose Grad 0-4

Der NAFLD-Aktivitätsscore (NAS) ist ein histologisches Scoresystem, das 2005 von Brunt et al. entwickelt und validiert wurde [9]. Der Score hat in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Er basiert auf einem älteren Staging von Steatose, Steatohepatitis und Fibrose [51]. Die Steatose (0-3), lobuläre Entzündung (0-2) und das hepatocelluläre Ballooning (0-2) werden semiquantitativ beurteilt und der Score wird als die Summe der o. g. Subscores errechnet. Die Fibrose wird hier nicht mitberücksichtigt. Der NAS wurde auch als Verlaufsparmeter validiert und zeigte eine gute Reproduzierbarkeit [9]. Der NAS ist weniger gut geeignet für die Diagnose von NAFLD oder NASH [52].

Der SAF-Score ist ein neuerer pathologischer Score, der von Bedossa et al. zur histologischen Diagnostik der NASH bei Patienten mit ausgeprägter Adipositas oder metabolischem Syndrom entwickelt wurde. Zur Klassifizierung der histologischen Befunde wurde ein FLIP-Algorithmus (*fatty liver inhibition of progression*) genutzt [53]. Vorteilhaft sind beim SAF-Score im Vergleich zu NAS der Ausschluss der Steatose aus dem Aktivitätsscore sowie der Einschluss der Fibrose [54].

Die NAFLD-Diagnostik verlangt den Ausschluss eines aktuellen Alkoholabusus. Nach den amerikanischen Leitlinien liegt die Schwelle bei einem wöchentlichen Konsum von mindestens 14 Alkoholeinheiten (AE) bei Frauen und 21 AE bei Männern. Eine AE entspricht ca. 350 ml Bier, 120 ml Wein oder 30 ml hochprozentigem Alkohol [6]. In klinischen Studien wird ein Tagebuch empfohlen, um den Alkoholkonsum zu bestimmen [55]. In den deutschen Leitlinien liegt die Schwelle bei einem täglichen Konsum von 10 g Alkohol bei Frauen und 20 g bei Männern [5]. In den europäischen Leitlinien wird eine tägliche Schwelle von 20 g bei Frauen und 30 g bei Männern angegeben [4].

Außerdem sollten für die Diagnose einer NAFLD oder NASH alle viralen, metabolischen, autoimmunen und toxischen Ursachen ausgeschlossen werden [1].

VI Prognosemarker des Krankheitsverlaufs

Zur Identifizierung der Hochrisikopatienten mit NASH oder Fibrose aus dem Gesamtspektrum der NAFLD-Patienten wurden verschiedene klinische Charakteristika, Biomarker, bildgebende Verfahren, genetische Marker und prädiktive Scoremodelle vorgeschlagen [56].

1. Prognose-Modelle und Marker

Diese meisten Prognose-Marker sind Fibrosemarker, da eine fortgeschrittene Fibrose (F3-F4; F₄ entspricht einer Cirrhose) in zahlreichen Studien als der beste Prädiktor der langfristigen Mortalität bei Patienten mit einer NAFLD identifiziert wurde [57, 58].

1.1. AST/ALT-Verhältnis (de Ritis Quotient)

Der de-Ritis-Quotient wurde 1957 von de Ritis et al. eingeführt [1] und wird als das Verhältnis von AST und ALT errechnet [59]. Der dimensionslose de Ritis-Quotient liegt bei NAFLD-Patienten meist unter 1. Ein Wert > 1 weist auf eine fortgeschrittene Fibrose hin [56]. Ein Wert $< 0,8$ hat einen negativen Vorhersagewert (NPV) von 93% für die fortgeschrittene Fibrose [60].

1.2. NAFLD Fibrosis Score (NFS)

Der NFS ist ein mehrfach validierter Score, der initial von Angulo et al. entwickelt wurde; er sagt eine fortgeschrittene Fibrose bei Patienten mit einer NAFLD mit einer AUROC von 85% vorher [56]. Der NFS hat sich als Prognoseprädiktor für Mortalität und Leberkomplikationen bei NAFLD-Patienten bewährt [61]. Ein hoher NFS führt bei Patienten mit NAFLD zur Empfehlung für eine weitere Evaluation wie z. B. eine Leberbiopsie [7]. Viele NAFLD-Patienten haben in der Literatur allerdings intermediäre NFS-Werte, die keine eindeutige Vorhersage bzw. keinen eindeutigen Ausschluss einer schweren Fibrose erlauben [56]. Ein sehr niedriger NSF-Score ist hingegen nützlich, eine fortgeschrittene Fibrose bei NAFLD-Patienten auszuschließen [62].

Der NFS wird aus Alter, Hyperglykämie, BMI, Thrombozytenzahl, Serum-Albumin, ALT und AST errechnet. Eine Berechnung kann anhand der Literatur erfolgen [56]. Kostenfreie Onlinekalkulatoren sind im Internet zu finden (z. B. *naflscore.com*).

$$\text{NFS} = -1.675 + 0.037 \times \text{Alter (Jahre)} + 0.094 \times \text{BMI (kg/m}^2\text{)} + 1.13 \times \text{Glukoseintoleranz/Diabetes (Ja = 1, Nein = 0)} + 0.99 \times \text{AST/ALT} - 0.013 \times \text{Thrombozytenzahl (x10}^9\text{/L)} - 0.66 \times \text{Albumin (g/dL)}.$$

In einer großen Meta-Analyse zeigte sich eine diagnostische Genauigkeit des NFS für die Diagnose einer fortgeschrittenen Fibrose (F3-F4) von 85% [5]. Eine fortgeschrittene Fibrose konnte mit einer Sensitivität und Spezifität von jeweils 90% und 60% bei einem Grenzwert $<-1,455$ ausgeschlossen und mit 64% bzw. 97% bei einem Grenzwert $>0,676$ diagnostiziert werden [5]. Im Vergleich zum FIB-4 Score, dem APRI-Score und dem BARD-Score war der NFS in einer Studie der prognostisch beste Score für die Vorhersage von Leber-assoziierten Komplikationen bzw. Tod und Lebertransplantation [5]. Nach den aktuellen deutschen NAFLD-Leitlinien ist bei der NAFLD der NFS unter den verschiedenen nicht-invasiven Fibrose-Serummarkern am besten untersucht und validiert worden [5].

1.3. BARD-Score

Der BARD-Score wurde entwickelt, um die Wahrscheinlichkeit einer Leberfibrose bei NAFLD-Patienten zu prognostizieren. Der Score basiert auf dem BMI (1 Punkt, wenn $> 28 \text{ kg/m}^2$), AST/ALT-Ratio (2 Punkte, wenn $> 0,8$) und Diabetes mellitus (1 Punkt für die Anwesenheit des Diabetes) [63]. Zwei oder mehr Punkte sprechen für eine fortgeschrittene Fibrose (AUROC 70-81%) [56] und ein Score von 0-1 Punkten schließt die fortgeschrittene Fibrose mit einem negativen Vorhersagewert von 96% aus [63].

1.4. NashTest/FibroTest®

Der NashTest wurde im Jahre 2006 aus 13 Parametern (u. a. Alpha2-Makroglobulin, Apolipoprotein A1 und Haptoglobin) entwickelt und dient zur Prädiktion der NASH (AUROC 0,79) [64] und der fortgeschrittenen Fibrose bei NAFLD (AUROC 0,88) [65]. Der FibroTest ist nur kommerziell erhältlich [56] und seine Kosten werden in Deutschland von den gesetzlichen Krankenkassen nicht erstattet.

1.5. FIB4-Index

Der FIB4-Index ist ein Fibrosemarker, der initial für die Hepatitis C-Patienten entwickelt wurde; er basiert auf Alter, AST, ALT und Thrombozytenzahl.

$$\text{FIB4-Index} = (\text{Alter (Jahre)} \times \text{GOT}) / (\text{Thrombozytenzahl} \times \sqrt{\text{GPT}}) \text{ [66].}$$

Eine Berechnung kann anhand der Literatur erfolgen [56]. Kostenfreie Onlinekalkulatoren sind im Internet zu finden (z. B.

<https://www.hepatitisc.uw.edu/page/clinical-calculators/fib-4>).

Eine Studie aus dem Jahr 2009 unterstreicht, dass der FIB4-Index für die Prädiktion der fortgeschrittenen Fibrose anderen nicht invasiven Markern (hier waren u.a. BARD, NashTest und NFS untersucht) überlegen ist (AUROC 80%, NPV 90%). Der FIB4-Index kann die NASH von der NALF allerdings nicht verlässlich unterscheiden [67].

1.6. APRI (*AST to platelet ratio index*)

Der APRI-Wert basiert auf den Werten von AST und Thrombozyten. Da diese beiden Werte in der klinischen Routine nahezu immer vorliegen, ist er stets verfügbar und einfach zu errechnen. Er wurde zunächst entwickelt, um eine nicht invasive Aussage zur Fibrose bei Patienten mit chronischer Hepatitis C zu machen [68]. In neueren Studien war der Index aber auch bei NAFLD-Patienten nützlich; er sagte mit einer AUROC von 85% eine fortgeschrittene Fibrose vorher [69]. Kostenfreie Onlinekalkulatoren sind im Internet zu finden (z. B. <https://www.hepatitisc.uw.edu/page/clinical-calculators/apri>).

1.7. BAAT-Score

Der BAAT-Score ist ein klinisch-biologischer Score, der von Ratzliff et al. zur Prädiktion der Fibrose entwickelt wurde. Der Score ist eine Kombination aus Alter, BMI, Triglyzeriden und ALT (jeweils ein Punkt für BMI > 28 kg/m², Alter > 50 Jahre, ALT > 2 × obere Normgrenze, Triglyzeride > 1,7 mmol/L). Der BAAT-Score hatte in Studien eine AUROC von 0,84 und einen negativen Vorhersagewert von 100% für die septale Fibrose [70].

1.8. *Lipid Accumulation Product (LAP)*

Der LAP basiert auf Taillenumfang und Triglyzeridspiegel und ist ein guter Prädiktor der sonographischen Steatose [71].

LAP für Männer = (Taillenumfang [cm] - 65) × (Triglyzeride [mmol/L])

LAP für Frauen = (WC [cm] - 58) × (Triglyzeride [mmol/L])

1.9. *NAFLD Liver Fat Score*

Dieser Score kann den in der MR-Spektroskopie bestimmten hepatischen Fettgehalt voraussagen (AUROC 0,87). Es wird aus dem Vorliegen des metabolischen Syndroms und des Typ 2 Diabetes sowie aus Nüchterninsulin, AST und ALT errechnet [72].

1.10. *FibroMeter-Test NAFLD*

Der FibroMeter-Test ist ein kommerzieller Regressionsscore, der auf Alter, Gewicht, NBZ, AST, ALT, Ferritin und Thrombozyten basiert. Er kann genutzt werden, um eine fortgeschrittene Fibrose vorherzusagen (AUROC 0,94) [73]. Die Kosten werden in Deutschland bisher nicht von den gesetzlichen Krankenkassen erstattet.

1.11. *HAIR-Index*

Der HAIR-Index stützt sich auf klinische Merkmale wie das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie (1 Punkt), eine erhöhte ALT (> 40 U, 1 Punkt) und eine Insulinresistenz (IR-Index > 5, 1 Punkt); der HAIR-Index sagte das Vorliegen einer NASH bei bariatrischen Patienten mit einer Sensitivität von 80% und Spezifität von 89% voraus. Mit seiner Hilfe ließ sich auch eine fortgeschrittene Fibrose gut prognostizieren (AUROC 0,90) [74].

1.12. *NAFIC-Score*

Der NAFIC-Score wird aus Serumferritin, Nüchterninsulin und Typ IV Kollagen berechnet. Bei japanischen Patienten konnte dieser Score eine fortgeschrittene Fibrose vorhersagen (AUROC 0,86) [75].

1.13. *NAFLD Diagnostic Panel*

Dieser Index wird aus Geschlecht, BMI, Vorliegen eines Diabetes mellitus, Triglyzeriden sowie CK18-Fragmenten abgeleitet und hat eine AUROC von 0,81 für die Prädiktion der fortgeschrittenen Fibrose [76].

1.14. *Enhanced Liver Fibrosis (ELF)*

Der ELF-Score basiert auf der Messung von drei Biomarkern der hepatischen Fibrose: Hyaluronsäure, N-terminales Propeptid von Prokollagen III (PIIINP) und Gewebe-Metalloproteinase-1-Inhibitor (TIMP-1). Dieser Score kann die fortgeschrittene Fibrose gut voraussagen (AUROC 0,90) [77]. Die ELF-Messung ist ein kommerzieller Test und in Deutschland bisher keine Leistung der gesetzlichen Krankenversicherungen.

1.15. Serumferritin

In einer Studie von Kowdley et al. war das Serumferritin ein unabhängiger Prognosefaktor der fortgeschrittenen Fibrose bei Patienten mit NAFLD [78]. Ein erhöhtes Ferritin war auch mit der NASH-Diagnose bei diesen Patienten verbunden [78].

1.16. Cytokeratin-18-Fragmente

Das hepatocelluläre CK-18 wird von Kaspasen im Rahmen der Apoptose in CK-18-Fragmente zerlegt. Die Messung des Apoptose-assoziierten Epitops in der C-terminalen Domäne von CK-18 im Blut wurde benutzt, um die hepatocelluläre Apoptoseaktivität zu quantifizieren. Die CK-18-Bestimmung hatte in einer Studie eine gute Sensitivität und Spezifität für die NASH-Diagnostik bei Patienten mit Fettleber [79]. Ein CK-18-Anstieg war dabei mit einer schlechten Prognose verbunden [79]. Die Bestimmung der CK-18-Fragmente wird in der klinischen Praxis bisher aber nicht empfohlen [7].

1.17. Neue Marker aus der Glykobiologie

Der GlycoFibroTest basiert auf der Messung glykosilierter Proteine, das GA (glycylated albumin) / HbA1c Ratio bestimmt das Verhältnis zwischen glykosiliertem Albumin und glykosiliertem Hämoglobin. Dieser Marker ist in der klinischen Routine bisher nicht etabliert, können aber zukünftig genutzt werden, um eine fortgeschrittene Fibrose auszuschließen. Weitere Studien sind hierzu erforderlich [56].

2. Bildgebende Verfahren

2.1. Der sonographische Grad der Steatose

Die sonographisch (aber auch durch CT oder MRT) nachgewiesene schwere Steatose prädisponiert für eine NASH [80].

2.2. Die Vibrations-kontrollierte transiente Elastographie (VCTE, Fibroscan®)

Die transiente Elastographie ist ein kosten-effektives sonographie-basiertes Verfahren, das die Messung der Steifigkeit des Lebergewebes durch Messung lokaler Vibrationen ermöglicht. Dadurch können die fortgeschrittene Fibrose sowie die Cirrhose mit guten Ergebnissen eingeschätzt werden (AUROC 0,80-0,94 bei NAFLD-Patienten). Die Methode hat einige Beschränkungen wie bei Patienten mit Ascites, kongestiver Herzinsuffizienz, ausgeprägter Adipositas sowie extrahepatischer Cholestase; sie ist zudem vom Untersucher abhängig und ihre Kosten werden in Deutschland nicht von den gesetzlichen Krankenkassen erstattet [81].

2.3. ARFI (*acoustic radiation force impulse*)

Die ARFI ist eine alternative Methode zur transienten Elastographie für die Einschätzung der Lebersteifigkeit, wobei hier statt mechanischen akustische Vibrationen benutzt werden. Der Vorteil der ARFI-Technik ist die Tatsache, dass diese Messung im Rahmen einer Routinesonographie durchgeführt werden kann. Die Genauigkeit der Untersuchung ist ähnlich der der transienten Elastographie [56].

2.4. MR-Elastographie (MRE)

Diese nicht invasive Methode ist eine Kombination aus magnetischer Resonanz und akustischen Vibrationen. Trotz der relativ limitierten Studienlage ist die MRE eine vielversprechende Technik für die Bestimmung einer fortgeschrittenen Fibrose bei den Patienten mit NAFLD. Mit einer AUROC von bis 95% und einer NPV von bis 97% für die fortgeschrittene Fibrose nähert sich die Verlässlichkeit der MRE sogar der der Leberbiopsie [56].

3. Histologische Marker

3.1. NAFLD Activity Score (NAS)

Der NAS ist ein schlechter Marker für die Fibrose und kann auch die Progression der Fibrose nicht voraussagen [82]. Bezüglich der Prognose der langfristigen Mortalität bei den NAFLD-Patienten ist der NAS als Prognosefaktor dem Fibrorestadium unterlegen [83, 84].

3.2. Der histologische Grad der Steatose

Bei den Patienten mit histologischer schwerer Steatosis ist die Wahrscheinlichkeit einer vorliegenden NASH viel höher als bei denen mit geringerer Steatosis [80].

3.3. Die chronische portale Inflammation

In einer großen amerikanischen Studie ging die Schwere der chronischen portalen Inflammation mit mehreren klinischen und histologischen Merkmalen der NAFLD-Progression einher [85]. Diese Assoziation konnte allerdings in einer italienischen Studie nicht bestätigt werden [86].

3.4. Die mikrovesikuläre Steatose

Die mikrovesikuläre Steatose ist bei adipösen Patienten mit einer nicht alkoholischen Fettlebererkrankung kein typischer histologischer Befund, sondern Anlass, nach seltenen Ursachen für eine solche mikrovesikuläre Steatose zu suchen [5].

3.5. Die aberrante zentrale Arterie (AZA)

Die histologisch beurteilbare AZA deutet im Zusammenhang mit der CD34-positiven Mikroangiogenese auf eine mögliche Assoziation zwischen Neoangiogenese und der NASH-Progression zur Cirrhose hin [87].

3.6. Der histologische Grad der Fibrose

Der histologische Grad der Fibrose bietet eine präzisere Prognose für die langfristige Mortalität als die histologische Diagnose der NASH [4-6]. Die alleinige Diagnose der

NASH (ohne Fibrose) hilft wenig, um die Prognose des Krankheitsverlaufs zu bestimmen [88].

4. Die genetische Variabilität

4.1. Das Allel rs738409 im PNPLA3-Gen

Der Polymorphismus G/G im Allel rs738409 des PNPLA3-Gens ist im Vergleich zum Wildtyp (C/C) mit einem höherem Risiko einer histologischen Fibroseverschlechterung bei Fettleber-Patienten verbunden. Andere Komponenten des metabolischen Syndroms werden hingegen durch diesen Polymorphismus nicht beeinflusst [89]. Die Bestimmung von Polymorphismen im PNPLA3-Gen wird aber in der klinischen Routine bisher nicht empfohlen [4].

4.2. SNPs im Chromosom 10

Die Assoziation zwischen einzelnen *Single Nucleotide Polymorphismen* (SNPs) im Chromosom 10 und einer fortgeschrittener Fibrose konnte bei Patienten mit NASH belegt werden [90].

5. Vergleichende Bewertung und Reihenfolge der nicht-invasiven Fibrosetests

Nach den aktuellen deutschen NAFLD-Leitlinien ist bei der NAFLD der NFS unter den verschiedenen nicht-invasiven Fibrose-Serummarkern am besten untersucht und validiert worden. Nach den deutschen Leitlinien können als Alternative zum NFS auch der kommerziell erhältliche ELF, der kostenpflichtige Fibrotest und der kostenfreie FIB-4 Score (<http://gihep.com/calculators/hepatology/fibrosis-4-score>) benutzt werden, um die Leberfibrose nicht invasiv einzuschätzen [5]. Der FIB-4 Score wurde ursprünglich für die chronische Hepatitis C entwickelt, konnte aber in einigen Studien eine fortgeschrittenen Fibrose auch bei NAFLD-Patienten mit einer diagnostischen Genauigkeit von $\geq 90\%$ erkennen [5]. Der Fibrotest ist ein kommerzieller Fibrosetest. Auch dieser Test wurde zunächst für die chronische Hepatitis C entwickelt. Bei der NAFLD betrug die AUROC für die Diagnose einer fortgeschrittenen Fibrose $\geq 85\%$ [5]. In einer Vergleichsstudie war die transiente Elastographie (TE) signifikant besser für die Diagnose und den Ausschluss einer fortgeschrittenen Leberfibrose im Vergleich zum APRI-, FIB-4-, NFS- und BARD-Score [5]. In einer anderen Studie war die TE für

den Ausschluss einer fortschrittenen Fibrose dem FIB-4-, BARD-, NFS- und APRI-Score überlegen [5].

Es ist bisher nicht eindeutig geklärt, in welcher Reihenfolge welche Tests in der klinischen Praxis angewendet werden sollten. Die meisten untersuchten Algorithmen [5] beginnen mit dem NFS-Score als einem gut validierten kostenfreien Test. Bei einem Grenzwert $<1,455$ kann eine fortgeschrittene Leberfibrose mit hoher Verlässlichkeit ausgeschlossen werden. Bei Patienten oberhalb des Grenzwertes könnte eine TE zum Ausschluss einer fortgeschrittenen Leberfibrose durchgeführt werden. Bei TE-Werten $> 7,9$ kPa wird eine Leberbiopsie empfohlen [5].

VII Management

Das Management von NAFLD und NASH umfasst zum einen die Risikoreduktion von hepatischen Komplikationen und zum anderen die der kardiovaskulären. Dabei ist zu bedenken, dass die Verbesserung der hepatischen Steatose oder der Steatohepatitis keine Garantie für die Reduktion der kardiovaskulären Risiken ist [13].

1. Die Lebensstiländerung

Der aktuellen Datenlage zufolge werden bei allen Patienten mit einer NAFLD eine Gewichtsreduktion mittels Diät mit oder ohne Sport sowie die Behandlung der Komponenten des metabolischen Syndroms angestrebt [13]. Eine zu rasche Gewichtsabnahme sollte vermieden werden, da es sonst zur Verschlechterung der Inflammation und der Fibrose kommen kann. Eine schrittweise Gewichtsreduktion, z. B. 1600 g per Woche, kann hingegen zum Rückgang der Transaminasen und zur Besserung der histologischen Befunde führen [1]. Ein Gewichtsverlust von 3-5% verbessert die Steatose und ein Gewichtsverlust von bis 10% verbessert auch die Nekroinflammation. Sport ohne Ernährungsoptimierung hat keine bewiesene Wirkung auf die Nekroinflammation [7]. In einer anderen Studie zeigte sich, dass eine Gewichtsabnahme von 7-10% zu einer Remission der NAFLD/NASH sowie zu einer Regression der Fibrose führen kann [91]. In einer Metaanalyse senkte die vermehrte körperliche Bewegung den intrahepatischen Triglyzeridgehalt und die Transaminasen auch ohne Gewichtsverlust [92].

Von einem hohen Alkoholkonsum wird bei NAFLD-Patienten abgeraten. Über die Wirkung eines moderaten Konsums bei diesen Patienten liegen widersprüchliche Daten vor; ein gelegentlicher geringer Alkoholkonsum scheint aber die NASH nicht zu verschlechtern [7].

2. Medikamentöse Therapie

Es wird unterschieden zwischen den Therapien der metabolischen Erkrankungen, die ja häufig mit den Fettlebererkrankungen assoziiert sind, und den Medikamenten, die gezielt in der NAFLD/NASH-Therapie eingesetzt werden. Zu der ersten Kategorie zählen Statine und Antidiabetika, zu der zweiten gehören z. B. Vitamin E, Glitazone und Obeticholsäure [54].

Eine medikamentöse Therapie sollte lediglich im Fall einer histologisch gesicherter NASH eingeführt werden [1] und nur bei Patienten, bei denen die Erkrankung auf die Lebensstiländerung nicht anspricht [54]. Es ist bisher kein einziges Medikament für die Therapie von NAFLD oder NASH zugelassen.

2.1. Statine können für die Therapie der Dyslipidämie bei Patienten mit einer NAFLD eingesetzt werden; sie haben aber keine Wirkung auf die NAFLD oder NASH [5, 6].

2.2. Die Therapie mit Metformin hat keine signifikanten Effekte auf die hepatische Histologie bei NAFLD und NASH und wird in dieser Indikation nicht empfohlen [4, 6, 7].

2.3. Nach den amerikanischen und europäischen Leitlinien kann man Glitazone bei Patienten mit NASH einsetzen [4,6-7]. Eine Metaanalyse zeigte, dass Pioglitazon zur Verbesserung der Fibrose und zur NASH-Remission führen kann [93]. Eine unerwünschte Nebenwirkung ist die signifikante Gewichtszunahme [94]. Zugelassen ist das Pioglitazon bei NASH aber nicht und es wird in den deutschen Leitlinien auch nicht empfohlen [5].

2.4. *Glucagon-like peptide-1* (GLP-1) Analoge sind zur Therapie des Diabetes zugelassen und Liraglutid auch zur Therapie der Adipositas [95]. Liraglutid hatte in

Phase-2 Studien zudem eine gute Wirkung auf die Leberhistologie von NASH-Patienten und wird z. Z. in einer Phase 3-Studie bei NASH untersucht [96].

2.5. In einigen Publikation wird empfohlen, Omega-3-Fettsäuren für die Behandlung der Hypertriglyzeridämie bei NAFLD-Patienten einzusetzen [6, 7]. In den deutschen Leitlinien wird dies nicht empfohlen [5].

2.6. Nach den amerikanischen Leitlinien kann man Vitamin E bei nicht-diabetischen Patienten mit histologisch diagnostizierter NASH einsetzen [6], da in Studien Vitamin E zur Verbesserung der hepatischen Steatose und Fibrose führte [54]. Zugelassen ist das Vitamin E bei NASH aber nicht und es wird in den deutschen Leitlinien auch nicht empfohlen [5].

2.7. Die Obeticholsäure, ein selektiver Agonist des Farnenoid X-Rezeptors, verbesserte die hepatische Steatosis, Inflammation und Fibrose in einer Phase 2-Studie [97]. Diese Substanz wird z. Z. in einer Phase 3-Studie bei NASH-Patienten untersucht (www.clinicaltrials.gov).

2.8. Neue medikamentöse Strategien

Auf der NIH-Seite www.clinicaltrials.gov sind mehr als 40 Phase 2- und 3-Studien aufgelistet, die z. Z. viele verschiedene Substanzen bei NAFLD und NASH prüfen, u. a. Elafibranor (PPAR-Agonist), Oltipraz (LXR- α -Inhibitor), Selonsertib (ASK1 Inhibitor), Cenicriviroc (CCR2/5 Rezeptorinhibitor) und Emricasan (Caspase-Inhibitor) [54].

3. Bariatrische Chirurgie

Die bariatrische Chirurgie hat sich als eine gute Option bei sehr adipösen Patienten mit NAFLD bewährt, da bei diesen Patienten auch langfristig häufig eine signifikante histologische Verbesserung beschrieben wurde [7]. Außer der Verbesserung der Fibrose führte die bariatrische Chirurgie auch zur Senkung des kardiovaskulären Risikos und der Gesamtmortalität [91]. Zwei aktuelle große randomisierte Studien [98, 99] haben die günstige Rolle der bariatrischen Chirurgie bei der langfristigen Therapie der

Adipositas, des Diabetes mellitus Typ 2, der arteriellen Hypertonie und der Dyslipidämie bestätigt. In einer randomisierten Studie war die bariatrische Chirurgie (Roux-en-Y-Magenbypass oder *Sleeve*-Gastrektomie) plus einer intensiven konservativen Therapie der alleinigen intensiven konservativen Therapie bezüglich der Hyperglykämie-Ergebnisse nach 5 Jahren bei übergewichtigen oder adipösen Diabetikern deutlich überlegen [99]. In einer anderen Studie waren die Rate der Remission oder Prävention der Hyperglykämie, der arteriellen Hypertonie und der Dyslipidämie sowie der Gewichtsverlust nach 12 Jahren eindeutig höher bei den Patienten, bei denen eine bariatrische Chirurgie (Roux-en-Y-Magenbypass) durchgeführt wurde im Vergleich zu zwei großen, allerdings nicht randomisierten Kontrollgruppen ohne bariatrische Chirurgie [98]. In einer weiteren Studie führte die bariatrische Chirurgie zu einer signifikanten Reduktion des Lebervolumens und der Steatosis hepatis bei 83% der Patienten [100]. Die zwei meist verbreiteten Verfahren der bariatrischen Chirurgie wurden in einer deutschen Studie hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Fettlebererkrankung verglichen; wirksamer war der Roux-en-Y-Magenbypass im Vergleich zur *Sleeve*-Gastrektomie [101]. In den aktuellen europäischen, amerikanischen und deutschen Leitlinienempfehlungen sollte eine bariatrische Chirurgie bei sehr adipösen NAFLD-Patienten erwogen werden [101]. In den deutschen Leitlinien sollte die bariatrische Chirurgie insbesondere dann in Erwägung gezogen werden, wenn bei einem BMI $\geq 35 \text{ kg/m}^2$ gewichtsreduzierende Diäten und eine Veränderung des Lebensstils versagt haben [5, 6].

Ziele der Arbeit

1. Charakterisierung einer großen deutschen Patientengruppe mit histologisch gesicherter NAFLD
2. Charakterisierung wichtiger Risikofaktoren für die NAFLD und NASH sowie für eine fortgeschrittene Fibrose
3. Charakterisierung wichtiger Fibrosemarker und Vergleich mit den Daten aus den internationalen Studien
4. Entwicklung neuer nicht-invasiver Prognose-Scores

Methodik

1. Studienablauf. Rechtliche Voraussetzungen für die Studiendurchführung

Am 14. Dezember 2012 hat die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ein positives Votum für die Durchführung der Studie erteilt (Studiennummer 4090 vom 14. Dezember 2012).

2. Patientenauswahl

2.1. Eingeschlossene Patienten

In diese Studie wurden alle Patienten aus der Ambulanz von Herrn Professor Dr. med. C. Niederau (Katholisches Klinikum Oberhausen, St. Josef-Hospital) eingeschlossen, bei denen eine Leberbiopsie zwischen 1998 und 2012 eine histologisch gesicherte NAFLD ergeben hatte.

2.2. Ausschluss von Patienten

Folgende Patienten wurden ausgeschlossen:

2.2.1. Patienten, die einen täglichen Alkoholkonsum von mindestens 20 g bei Frauen und 30 g bei Männern hatten; nach den europäischen Leitlinien kann man bei entsprechend höherem Alkoholkonsum nicht mehr von einer nicht alkoholischen Fettlebererkrankung sprechen [4]. Die neuen deutschen Leitlinien setzen die tägliche Schwelle mit 10 g bei Frauen und 20 g bei Männern etwas niedriger an [5].

2.2.2. Patienten mit klinischen, laborchemischen oder histologischen Hinweisen auf eine andere Ursache der Lebererkrankung oder eine Co-Morbidität wie die virale Hepatitis A, B, C oder E, die medikamentöse Hepatitis, die autoimmune Hepatitis, die primär biliäre Cirrhose, die primär sklerosierende Cholangitis, den Morbus Wilson und die Hämochromatose.

3. Angewandte Methoden

Alle Leberbiopsien aus der Klinik von Herrn Prof. Dr. med. C. Niederau wurden im Institut für Pathologie Duisburg (Leiter Herr Prof. Dr. med. Gerharz) beurteilt und zusätzlich retrospektiv von Herrn Dr. med. Thiel nach dem NAS-Score klassifiziert, falls diese Einteilung primär nicht vorlag.

3.1 Klinisch-biologische Daten

Die folgenden aus den Patientenakten stammenden Informationen standen zur Verfügung:

3.1.1. Geschlecht und Alter

3.1.2. Anthropometrische Messungen: Gewicht, Größe und Körpermasseindex (BMI). Der BMI wurde mit der Formel $\text{Gewicht (kg)}/\text{Größe (m)}^2$ errechnet.

3.1.3. Alkoholkonsum

3.1.4. Medikamentenanamnese

3.1.5. Bekannte Krankheiten

- mit dem metabolischen Syndrom assoziierte Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Dyslipidämie, arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit, Carotisstenose, transitorische ischämische Attacke und Apoplex.

Die Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 oder Risikobereich für Diabetes mellitus Typ 2 wurden gemäß den 2010 publizierten Kriterien der American Diabetes Association [102] identifiziert. Ein $\text{HbA}_{1c} \geq 6,5\%$ oder ein Nüchtern-Blutzucker (NBZ) im Plasma $\geq 125 \text{ mg/dl}$ entsprachen einem Diabetes mellitus Typ 2. Ein HbA_{1c} von $5,7 - 6,5\%$ oder ein Nüchtern-BZ von $100 - 125 \text{ mg/dl}$ entsprachen dem Risikobereich für einen Diabetes mellitus Typ 2. Bei mehr als 90% der Patienten lag ein aktueller HbA_{1c} -Wert vor, der dann auch für die o. g. Einteilung verwendet wurde. Der NBZ wurde nur herangezogen, wenn kein aktueller HbA_{1c} -Wert vorlag.

- hepatische Komplikationen (Cirrhose, Aszites, Enzephalopathie, Ösophagusvarizen, Varizenblutung, hepatocelluläres Carcinom)

3.1.6. Laborparameter

- Gesamt-Cholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin, Triglyzeride
- HbA1c und NBZ
- Transaminasen (ALT, AST) und Cholestaseparameter (Bilirubin, GGT, alkalische Phosphatase)
- Thrombozytenzahl
- Albumin i. S.
- Quick
- Ferritin i. S.
- Anti-HAV-AK, HBs-Ag, Anti HBc-IgM/IgG-AK, Anti-HCV-AK, Anti-HEV-AK
- ANA, AMA, ASMA, LKM₁-AK, SLA/LP-AK
- Caeruloplasmin und Kupfer i. S., Kupfer im 24 h-Sammelurin

3.2. Histologische Daten

Die Diagnose der NAFLD basierte auf einer Leberbiopsie, in der mindestens 5% der Hepatozyten eine fettige Infiltration zeigten [103].

Das histologische Scoring erfolgte nach den Kriterien des *NASH Clinical Research Network*: Steatose (0-3), Inflammation (0-2), Ballooning (0-2), Fibrose (0-4).

Die Fibrotestadien wurden mithilfe einer Skala von 0 – 4 eingeteilt; die Stadien 3 und 4 wurden als fortgeschrittene Fibrose (F3-F4) betrachtet.

Der NAFLD Aktivitätsscore (NAS) [9] wurde berechnet (0-7 Punkte), um die Diagnose der NASH zu stellen: NASH-Diagnose bei ≥ 5 Punkten.

Sechs nicht-invasive Fibrosemarker - AST/ALT Ratio, APRI, FIB-4-Index, NFS, BAAT-Score und BARD-Score [56, 60, 104] - wurden in dieser Arbeit untersucht.

3.3. Bearbeitung

Alle Daten wurden mit dem Programm IBM *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS 21) analysiert.

Mit Hilfe des t-Tests für unabhängige Stichproben wurde geprüft, ob sich die Mittelwerte zwischen zwei Gruppen signifikant unterschieden. Häufigkeitsverteilungen wurden mit dem χ^2 -Test analysiert. Bei beiden Tests wurden Ergebnisse mit $p < 0.05$ als signifikant erachtet. Bei fehlender Normalverteilung wurden der Mann-Whitney-U-Test bzw. der Fischer's Exact Test angewendet. Für potenzielle Risikofaktoren wurde das Odds Ratio (OR) errechnet. Mittelwerte und Standardabweichungen werden als $M \pm SD$ angegeben.

Die Signifikanztests wurden bei gerichteten Hypothesen einseitig, bei ungerichteten Hypothesen zweiseitig durchgeführt.

Bei allen verwendeten parametrischen Tests wurden die jeweiligen Voraussetzungen (Normalverteilung oder Varianzhomogenität der Daten) mit den entsprechenden Tests (Kolmogorov-Smirnov-Test oder Levene-Test) geprüft. Zwecks einer besseren Lesbarkeit werden diese Ergebnisse aber nur dann berichtet, wenn Voraussetzungen verletzt und Konsequenzen (z. B. Anwendung non-parametrischer Verfahren) daraus gezogen wurden.

Mittelwertsunterschiede zwischen mehr als zwei Gruppen wurden mit Hilfe der univariaten Varianzanalyse analysiert (ANOVA). Bei fehlender Normalverteilung oder Varianzhomogenität der Daten wurde der Kruskal-Wallis-Test angewendet.

Zusammenhänge zwischen intervall-skalierten Daten wurden durch Berechnung der Pearson-Produkt-Moment-Korrelation und mit dem entsprechenden t-Test für die Korrelations-Koeffizienten überprüft. Bei ordinal- oder nominalskalierten sowie bei nicht normalverteilten Daten wurden die Korrelationen mit der Spearmans-Rangkorrelation überprüft.

Zur Bestimmung der Faktoren, die mit der fortgeschrittenen Fibrose assoziiert waren, wurden logistische Regressionen berechnet.

Zur Beurteilung der Genauigkeit der prädiktiven Marker für eine fortgeschrittene Fibrose wurden die Flächen unter den ROC-Kurven (AUROC) berechnet.

Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant betrachtet.

3.4. Die Bibliographie wurde mit EndNote X7 erfasst.

Ergebnisse

1. Deskriptiv-statistische Ergebnisse

In die Studie wurden insgesamt 299 Patienten mit histologisch gesicherter NAFLD eingeschlossen. Die Biopsien wurden zwischen den Jahren 1998 und 2012 durchgeführt (Median 2006). Eine relevante Komplikation der Leberbiopsie (transfusionspflichtige Blutung oder OP-Notwendigkeit) trat bei keinem Patienten auf. Das Intervall zwischen dem Zeitpunkt der Biopsie und der Erhebung der klinischen und laborchemischen Befunde betrug $0,03 \pm 0,24$ Jahre und maximal 1 Jahr. Das Alter der Patienten zum Biopsiezeitpunkt variierte zwischen 19 und 82 Jahren und der Median lag bei 51 Jahren. Die Datenbasis enthielt 138 Frauen (46,2%) und 161 Männer (53,8%).

Der BMI schwankte von 16,44 bis 48,27 kg/m² mit einem Mittelwert von 29,31. Ein BMI von mindestens 30 kg/m² lag bei 35,8% der Patienten vor.

Von den 299 Patienten hatten 24,1% einen Diabetes mellitus Typ 2 und 26,7% waren im Risikobereich für einen Diabetes mellitus (s. Tabelle 2). Eine Therapie mit oralen Antidiabetika oder eine Insulintherapie erhielten 8,4% bzw. 1,7% der Patienten. Eine arterielle Hypertonie lag bei 35,5% der Fälle vor (s. Tabelle 1).

In der Vorgeschichte der Patienten lag in 2% eine KHK, in 0,7% eine pAVK, in 0,7% ein Apoplex/TIA 0,7% und in keinem Fall eine Carotisstenose vor.

Charakteristika der gesamten Stichprobe	N (%)
Demographie	
Männlich (%)	162 (53,1)
Alter (Jahren)	50,38±13,56
Klinik	
Adipositas (%)	107 (35,8)
Diabetes mellitus Typ 2 (%)	72 (24,1)
Arterielle Hypertonie (%)	106 (35,5)
Anthropometrie	
Body mass index (kg/m ²)	29,31±4,39
Labor	
GOT (U/L)	47,94±30,4
GPT (U/L)	79,48±49,15
GGT (U/L)	159,8±135,5
Alkalische Phosphatase (U/L)	105,49±54,27
Gesamtbilirubin (mg/dL)	0,74±0,46
Albumin (g/dL)	4,46±0,53
Quick (%)	93,98±13,52
Thrombozyten (1000/mm ³)	258,67±76,42
Gesamtcholesterin (mg/dL)	222,21±47,35
HDL-Cholesterin (mg/dL)	48,5±13,23
LDL-Cholesterin (mg/dL)	138,56±42,7
Triglyzeride (mg/dL)	248,75±153,46
HbA1c (%)	6,26±1,3
Nüchtern-BZ i. S. (mg/dL)	107,58±42,95
Ferritin (ng/mL)	230,18±201,51
Harnsäure (mg/dL)	5,71±1,76

Tabelle 1. Klinische und laborchemische Charakteristika der gesamten Stichprobe

Diabetes mellitus Typ 2 oder Risikobereich	N (%)
Diabetes mellitus Typ 2 (HbA1c $\geq 6,5$ % und/oder Nüchtern-BZ ≥ 126 mg/dl)	72 (24,1)
Risikobereich für Diabetes (HbA1c 5,7 – 6,5 % und/oder Nüchtern-BZ 100 – 125 mg/dl)	80 (26,7)
Kein Diabetes und kein Risikobereich (HbA1c $< 5,7$ % und Nüchtern-BZ < 100)	147 (49,2)

Tabelle 2. Diabetes mellitus Typ 2 oder Risikobereich

Histologische Befunde der gesamten Stichprobe	N (%)
Patientenzahl	299
Steatose (%)	
Grad I	78 (26,1)
Grad II	61 (20,4)
Grad III	160 (53,5)
Inflammation (%)	
Grad 0	163 (54,5)
Grad I	113 (37,8)
Grad II	23 (7,7)
Ballooning (%)	
Grad 0	34 (11,4)
Grad I	160 (53,5)
Grad II	105 (35,1)
Fibrose (%)	
Stadium 0 (F0)	167 (55,9)
Stadium I (F1)	94 (31,4)
Stadium II (F2)	11 (3,7)
Stadium III (F3)	18 (6)
Stadium IV (F4)	9 (3)
Fibrose (%)	
Ja (F1-F4)	132 (44,1)
Nein (F0)	167 (55,9)
Fibrose (%)	
Keine Fibrose/keine fortgeschrittene Fibrose (F0-F2)	272 (91)
Fortgeschrittene Fibrose (F3-F4)	27 (9)
NAS ≥ 5 (%)	
Ja	145 (48,7)
Nein	153 (51,3)

Tabelle 3. Histologische Charakteristika der gesamten Stichprobe

Die Transaminasen (AST, ALT) waren meist leicht erhöht, ebenso wie das Gesamtcholesterin. Das LDL-Cholesterin war deutlich erhöht (Mittelwert 138,5 mg/dl),

ebenso wie die Triglyzeride (Mittelwert 248,7 mg/dl). Der Nüchtern-BZ lag im Mittel bei 107,5 mg/dl und das HbA1c bei 6,26% (s. Tabelle 1).

Über die Hälfte (53,5%) der Patienten hatten eine Steatose Grad III. Bei 54,5% der Patienten fand sich keine Inflammation und 53,5% zeigten lediglich ein leichtgradiges Ballooning. Eine Fibrose lag bei 44,1% der Patienten vor und der NAS war bei fast der Hälfte (48,7%) der Patienten ≥ 5 (Surrogat für die NASH-Diagnose) (s. Tabelle 3).

2. Statistische Ergebnisse für die fortgeschrittene Fibrose (F3-F4)

Eine fortgeschrittene Fibrose (F3-F4) war bei 9% der Patienten nachweisbar. 91% der Patienten hatten keine Fibrose (F0) oder keine fortgeschrittene Fibrose (F1-F2).

2.1. Demographische, anthropometrische und klinische Daten

2.1.1. Alter

Das durchschnittliche Alter lag bei $50,3 \pm 13,5$ Jahren, der Median bei 51 Jahren. Die Patienten mit fortgeschrittener Fibrose ($62,1 \pm 9,7$ Jahre) waren signifikant älter als die Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose ($49,2 \pm 13,3$ Jahre) ($p < 0,0001$). Das Alter und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant miteinander korreliert (Spearman's $r_s = 0,27$, $p < 0,001$). Ein höheres Alter korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose.

Die Patienten wurden zur weiteren Analyse in zwei etwa gleich große Altersgruppen eingeteilt (eine Gruppe ≥ 50 Jahre, die zweite < 50 Jahre); diese Einteilung wurde für den BAAT-Score benutzt [70]. In unserer Stichprobe betrug der Altersmedian 51. 50,8% der Patienten waren über 50 Jahre alt. Der χ^2 -Test (Fischer's exact Test) zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter („cut-off“ 50 Jahre) und der fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2 = 17,19$, $p < 0,0001$, zweiseitig getestet). Ein Alter über 50 Jahren erwies sich als Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose. Das Odds-Ratio (OR) für eine fortgeschrittene Fibrose im Alter ≥ 50 Jahre war 9,0 im Vergleich zu der Gruppe im Alter < 50 Jahre (OR=9; 95% Konfidenzintervall [95% KI] 2,64-30,59) (s. Tabelle 4).

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
Alter	< 50 Jahre	144	3	147
	≥ 50 Jahre	128	24	152
Total		272	27	299

Tabelle 4. Fortgeschrittene Fibrose und Alter über 50 Jahre

2.1.2. Geschlecht

53,1% der Patienten waren männlich und 46,9% weiblich (s. Tabelle 5). Zwischen dem Geschlecht und der fortgeschrittenen Fibrose fand sich keine signifikante Korrelation ($\Phi=-0,036$, $p=0.53$).

		Geschlecht		Total
		weiblich	männlich	
Fibrose	nicht fortgeschritten	124	148	272
	fortgeschritten	14	13	27
Total		138	161	299

Tabelle 5. Fortgeschrittene Fibrose und das Geschlecht

2.1.3. Body Mass Index (BMI)

Der BMI und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,114$, $p<0,05$). Bei höherem BMI fand sich vermehrt eine fortgeschrittene Fibrose.

Der BMI war bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 30,61 kg/m²) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 29,18 kg/m²) ($p<0,05$, einseitig getestet; Mann Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung).

Zu weiteren Analysen wurde der BMI in 4 Gruppen unterteilt (s. Tabelle 6). Es zeigte sich eine schwache Korrelationen zwischen einer fortgeschrittenen Fibrose und den 4 BMI-Untergruppen ($r_s=0.095$, $p=0,05$).

	BMI				Total
	20-25 kg/m ²	25-30 kg/m ²	30-35 kg/m ²	>35 kg/m ²	
nicht Fibrose fortgeschritten	35	144	65	28	272
fortgeschritten	3	10	9	5	27
Total	38	154	74	33	299

Tabelle 6. Die fortgeschrittene Fibrose und BMI

Eine Adipositas ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) lag bei 35,8% der Patienten vor (s. Tabelle 7). Der χ^2 -Test zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Adipositas und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=3,33$, $p=0,068$, zweiseitig getestet), wobei hier aber zumindest ein Tendenz zu einem solchen Zusammenhang bestand.

	Fibrose		Total
	nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
Adipositas Nein	179	13	192
Ja	93	14	107
Total	272	27	299

Tabelle 7. Die fortgeschrittene Fibrose und Adipositas

2.1.4. Typ 2 Diabetes

Einen Typ 2 Diabetes hatten 24,1% der Patienten. Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen eines Typ 2 Diabetes und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=29,4$, $p<0,001$). Das Vorliegen eines Diabetes erwies sich als Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose. Das Odds-Ratio für eine

fortgeschrittene Fibrose bei Patienten mit Diabetes betrug 8,07 (OR=8,07; 95% KI 3,4-18,9) im Vergleich zu denen ohne Diabetes (s. Tabelle 8).

		Diabetes		Total
		Nein	Ja	
Fibrose	nicht fortgeschritten	218	54	272
	fortgeschritten	9	18	27
Total		227	72	299

Tabelle 8. Die fortgeschrittene Fibrose und Diabetes

50,8% der Patienten hatten entweder einen Typ 2 Diabetes oder hatten HbA1c- und/oder NBZ-Werte, die im Risikobereich für einen Diabetes mellitus lagen (s. Tabelle 9). Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen des Diabetes oder des Risikobereiches für einen Diabetes und der fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=14,01$, $p<0,001$). Das Vorliegen eines Diabetes oder des Risikobereiches für einen Diabetes erwies sich als Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose (OR=6,37; 95% KI 2,1-18,9).

Von allen Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose hatten nur vier Patienten (14,8%) keinen Diabetes mellitus und lagen auch nicht im Risikobereich für einen Diabetes mellitus. Je zwei dieser Patienten waren Männer bzw. Frauen. Die vier Patienten hatten ein Alter zwischen 43 und 61 Jahren und waren nicht adipös (BMI zwischen 24,1 und 27,8 kg/m²). In der Histologie lag der NAS zwischen 5 und 7 Punkten. Zwei der vier Patienten hatten eine arterielle Hypertonie. Die Gesamtcholesterinwerte lagen zwischen 122 und 224 mg/dl, die Triglyzeride zwischen 154 und 233 mg/dl, die Quickwerte zwischen 70 und 80% und die Thrombozyten zwischen 51.000 und 239.000/ μ l.

		Diabetes oder Risikobereich		Total
		Nein	Ja	
Fibrose	nicht fortgeschritten	143	129	272
	fortgeschritten	4	23	27
Total		147	152	299

Tabelle 9. Fortgeschrittene Fibrose und Diabetes/Risikobereiches für Diabetes

2.1.5. Arterielle Hypertonie

35,5% der Patienten hatten eine anamnestisch vorbekannte arterielle Hypertonie (s. Tabelle 10). Der χ^2 -Test zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer arteriellen Hypertonie und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=0,36$, $p=0,27$).

		Arterielle Hypertonie		Total
		nein	ja	
Fibrose	nicht fortgeschritten	177	95	272
	fortgeschritten	16	11	27
Total		193	106	299

Tabelle 10. Die fortgeschrittene Fibrose und die arterielle Hypertonie

2.2. Labor-Daten (s. Tabelle 11)

Eine Normalverteilung lag nur bei den folgenden Variablen vor: Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin, Harnsäure und Thrombozytenzahl. Bei allen anderen laborparametrischen Variablen wurde aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Mann-Whitney U-Test angewendet.

2.2.1. Die Nüchtern-BZ-Werte (NBZ) waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 142,6 mg/dl) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 103,9 mg/dl) ($p<0,0001$, einseitig getestet).

2.2.2. Die HbA1c-Werte waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 7,22%) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 6,09%) ($p<0,0001$, einseitig getestet).

2.2.3. Das Gesamtcholesterin war in der Gruppe mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 191,96 mg/dl) niedriger im Vergleich zu der Gruppe ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 225,32 mg/dl) ($p<0,001$, zweiseitig getestet).

2.2.4. Die HDL-Cholesterin-Werte waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 43,64 mg/dl) niedriger als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 49,08 mg/dl) ($p < 0,05$, einseitig getestet).

2.2.5. Die LDL-Cholesterin-Werte waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 109,12 mg/dl) niedriger als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 141,83 mg/dl) ($p < 0,01$, zweiseitig getestet).

2.2.6. Die Patienten mit fortgeschrittener Fibrose hatten höhere AST-Werte (Mittelwert 64,27 mg/dl) als die Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 46,32 mg/dl) ($p < 0,0001$, einseitig getestet).

2.2.7. Die GGT-Werte waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 232,85 mg/dl) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 152,5 mg/dl) ($p < 0,001$, einseitig getestet).

2.2.8. Die Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose hatten leicht höhere Gesamtbilirubin-Werte (Mittelwert 0,83 mg/dl) als die Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 0,72 mg/dl) ($p < 0,05$, einseitig getestet).

2.2.9. Die Quick-Werte waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 79,5%) niedriger als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 95,6%) ($p < 0,0001$, einseitig getestet).

2.2.10. Die Albumin-Werte waren bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 4,12 mg/dl) niedriger als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 4,5 mg/dl) ($p < 0,0001$, einseitig getestet).

2.2.11. Die Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose hatten eine niedrigere Thrombozytenzahl (Mittelwert 188.190/ μ l) als die Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 266.370/ μ l) ($p < 0,001$, einseitig getestet).

2.2.12. Der Ferritinwert war höher in der Gruppe mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 310,2 mg/dl) im Vergleich zu der Gruppe ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 220,7 mg/dl) ($p < 0,05$, einseitig getestet).

Laborwerte	Fibrose	N	Mean	Std. Deviation
Blutzucker	nicht	262	103,97	39,71
	fortgeschritten			
HbA1c	fortgeschritten	27	142,62	56,59
	nicht	100	6,095	1,24
Cholesterin	fortgeschritten	18	7,22	1,27
	nicht	243	225,32	46,17
HDL-Cholesterin	fortgeschritten	25	191,96	48,97
	nicht	166	49,09	13,41
LDL-Cholesterin	fortgeschritten	20	43,64	10,86
	nicht	171	141,83	42,26
Triglyzeride	fortgeschritten	19	109,12	35,68
	nicht	230	251,42	157,61
Harnsäure	fortgeschritten	25	224,16	107,28
	nicht	179	5,71	1,4513
GOT	fortgeschritten	22	5,77	1,59
	nicht	272	46,32	30,55
GPT	fortgeschritten	27	64,27	23,717
	nicht	272	80,42	50,25
GGT	fortgeschritten	27	70,11	35,674
	nicht	272	152,55	131,60
	fortgeschritten	27	232,85	154,50

Alkalische Phosphatase	nicht	211	105,21	56,44
	fortgeschritten			
Gesamtbilirubin	fortgeschritten	26	107,81	32,20
	nicht	145	,73	,48
Quick	fortgeschritten	20	,84	,36
	nicht	241	95,60	12,39
Thrombozytenzahl	fortgeschritten	27	79,51	14,82
	nicht	247	266,37	73,13
Albumin	fortgeschritten	27	188,19	70,797
	nicht	229	4,51	,54
Ferritin	fortgeschritten	27	4,12	,38
	nicht	228	220,71	192,67
	fortgeschritten	27	310,20	255,27

Tabelle 11. Die fortgeschrittene Fibrose und laborparametrische Variablen

Zur weiteren Analyse des Ferritin als potenzieller Risikofaktor für eine fortgeschrittene Fibrose wurden die Patienten in zwei Gruppen eingeteilt (s. Tabelle 12), mit einem geschlechtspezifischen *cut-off*: 300 mg/dl für die weiblichen und 400 mg/dl für die männlichen Patienten [78]. In der weiblichen Patientengruppe zeigte der χ^2 -Test einen grenzwertig signifikanten Zusammenhang zwischen Ferritin mit einem *cut-off* von 300 mg/dl und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=3,64$, $p<0,05$, einseitig getestet). Ein Ferritinwert von ≥ 300 mg/dl erwies sich aber nicht als Risikofaktor für eine fortgeschrittene Fibrose (OR=3,12; 95% KI 0,92-10,53).

		Ferritin		Total
		<300 mg/dl	≥ 300 mg/dl	
Fibrose	nicht	90	16	106
	fortgeschritten			
	fortgeschritten	9	5	14
Total		99	21	120

Tabelle 12. Die fortgeschrittene Fibrose und Ferritin bei weiblichen Patienten

Der χ^2 -Test zeigte in der männlichen Patientengruppe keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Ferritin (*cut-off* 400 mg/dl) und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=2,45$, $p=0,55$, einseitig getestet).

2.2.13. Bei den anderen laborparametrischen Variablen wie Harnsäure, Triglyzeride, ALT und alkalische Phosphatase fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den zwei Fibrosegruppen (Daten nicht gezeigt).

2.3. Histologische Daten

2.3.1. Die Steatose

Innerhalb der gesamten Stichprobe hatten 26,1% der Patienten eine Steatose Grad 1, 20,4% eine Steatose Grad 2 und 53,5% eine Steatose Grad 3 (s. Tabelle 13). Der Steatosegrad und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,127$, $p=0,01$). Ein höherer Steatosegrad korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose.

	Steatose			Total
	Grad 1	Grad 2	Grad 3	
nicht Fibrose fortgeschritten	76	55	141	272
fortgeschritten	2	6	19	27
Total	78	61	160	299

Tabelle 13. Die fortgeschrittene Fibrose und die Steatose

2.3.2. Die Inflammation

Innerhalb der gesamten Stichprobe zeigten 54,5% der Patienten keine Inflammation (entspricht Grad 0), 37,8% eine Inflammation Grad 1 und 7,7% eine Inflammation Grad 2 (s. Tabelle 14). Der Inflamationsgrad und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant miteinander assoziiert ($r_s=0,37$, $p<0,0001$). Ein höherer Inflamationsgrad korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose.

		Inflammation			Total
		Grad 0	Grad 1	Grad 2	
Fibrose	nicht fortgeschritten	161	100	11	272
	fortgeschritten	2	13	12	27
Total		163	113	23	299

Tabelle 14. Die fortgeschrittene Fibrose und die Inflammation

Der χ^2 -Test (Fisher's exact Test, da die Häufigkeit der Fälle in einer Zelle unter 5 war) zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen der Inflammation und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=26,56$, $p<0,0001$) (s. Tabelle 15 und Abb. 2). Das Vorliegen einer Inflammation erwies sich als Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose. Das Odds-Ratio für eine fortgeschrittene Fibrose bei Patienten mit vorliegender Inflammation war 18,1 (OR=18,13; 95% KI 4,2-78,1) im Vergleich zu den Patienten ohne Inflammation. 92,6% der Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose hatten auch eine Inflammation.

		Inflammation		Total
		nein	ja	
Fibrose	nicht fortgeschritten	161	111	272
	fortgeschritten	2	25	27
Total		163	136	299

Tabelle 15. Die fortgeschrittene Fibrose und das Vorliegen einer Inflammation

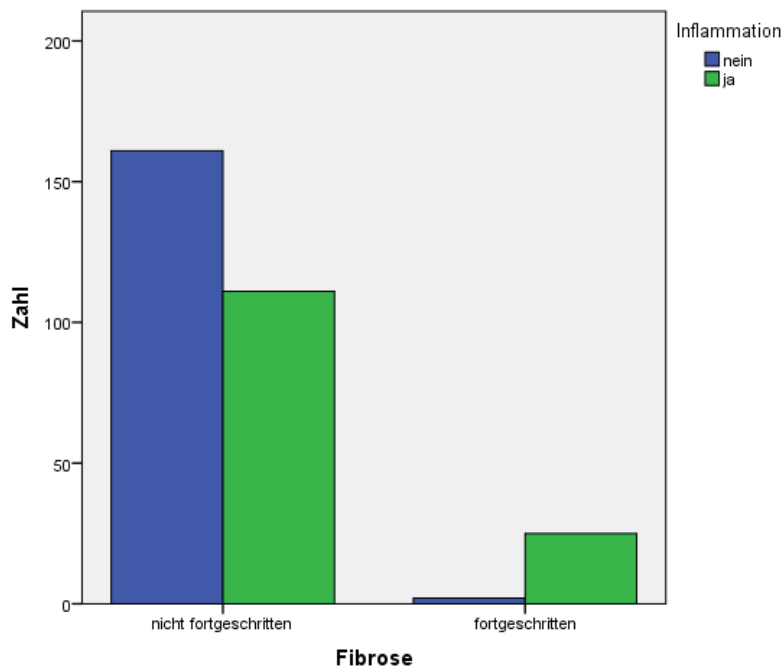


Abb. 2. Die fortgeschrittene Fibrose und das Vorliegen einer Inflammation

2.3.3. Das Ballooning

Die histologische Begutachtung ergab bei 11,4% der Patienten kein Ballooning der Hepatozyten (Grad 0), bei 53,5% ein Ballooning Grad 1 und bei 35,1% ein Ballooning Grad 2 (s. Tabelle 16). Der Ballooninggrad und die fortgeschrittene Fibrose zeigten eine schwache Korrelation ($r_s=0,095$, $p=0,05$).

		Ballooning			Total
		Grad 0	Grad 1	Grad 2	
Fibrose	nicht fortgeschritten	34	145	93	272
	fortgeschritten	0	15	12	27
Total		34	160	105	299

Tabelle 16. Die fortgeschrittene Fibrose und das Ballooning

Bei allen Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose fand sich ein Ballooning (s. Tabelle 17).

		Ballooning		Total
		nein	ja	
Fibrose	nicht fortgeschritten	34	238	272
	fortgeschritten	0	27	27
Total		34	265	299

Tabelle 17. Die fortgeschrittene Fibrose und das Vorliegen eines Balloonings

2.3.4. NAFLD-Aktivitätsscore

Der NAS und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,28$, $p<0,0001$). Ein höherer NAS korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose (s. Tabelle 18).

		NAS							Total
		1	2	3	4	5	6	7	
Fibrose	nicht fortgeschritten	20	46	37	45	85	38	1	272
	fortgeschritten	0	0	1	4	8	9	5	27
Total		20	46	38	49	93	47	6	299

Tabelle 18. Die fortgeschrittene Fibrose und der NAS

Zu weiteren Analysen wurden die Patienten anhand des NAFLD-Aktivitätsscores in zwei etwa gleich große Gruppen eingeteilt [105]. Die histologische Begutachtung ergab bei 48,7% der Patienten einen NAS von ≥ 5 (NASH-Diagnosesurrogat) und bei 51,3% einen NAS von < 5 (s. Tabelle 19).

Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer NASH-Diagnose und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=12,66$, $p<0,0001$). Die positive NASH-Diagnose erwies sich als Risikofaktor für eine fortgeschrittene Fibrose. Das Odds-Ratio für eine fortgeschrittene Fibrose bei den Patienten mit einem NAS ≥ 5 war 5,25 (OR=5,25; 95% KI 1,93-14,27) im Vergleich zu den Patienten mit einem NAS < 5 (s. Abb. 3).

		NAS		Total
		< 5	≥ 5	
Fibrose	nicht fortgeschritten	148	124	272
	fortgeschritten	5	22	27
Total		153	146	299

Tabelle 19. Die fortgeschrittene Fibrose und die NASH-Surrogatdiagnose

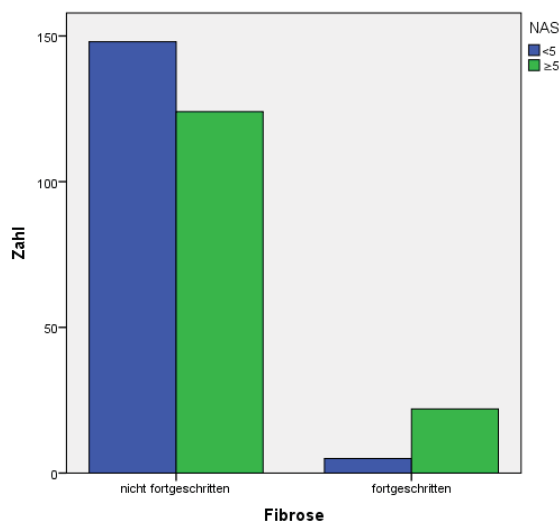


Abb. 3. Die fortgeschrittene Fibrose und ein NAS ≥ 5

2.4. Prädiktive Scores

2.4.1. AST/ALT Ratio (de Ritis-Quotient)

Der de Ritis-Quotient und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant miteinander assoziiert ($r_s=0,36$, $p<0,0001$). Ein höherer de Ritis-Quotient korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose. Der de Ritis-Quotient war bei Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose (Mittelwert 1,04) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 0,64; $p<0,0001$, einseitig getestet; Mann Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung).

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand des de Ritis-Quotienten (*cut-off* 0,8) in zwei etwa gleich große Gruppen eingeteilt [60] (s. Tabelle 20). Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem de Ritis-Quotienten und einer

fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=63,13$, $p<0,0001$). Ein de Ritis-Quotient von $> 0,8$ erwies sich als Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose. Das Odds-Ratio für eine fortgeschrittene Fibrose bei den Patienten mit einem de Ritis-Quotienten $\geq 0,8$ war 21,5 (OR=21,55; 95% KI 8,17-56,84) im Vergleich zu den Patienten mit einem de Ritis-Quotienten $< 0,8$.

		de Ritis-Quotient		Total
		$< 0,8$	$\geq 0,8$	
Fibrose	nicht fortgeschritten	234	38	272
	fortgeschritten	6	21	27
Total		240	59	299

Tabelle 20. Die fortgeschrittene Fibrose und der de Ritis-Quotient

2.4.2. APRI (*AST to Platelet Ratio Index*)

Der APRI und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,34$, $p<0,0001$). Ein höherer APRI korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose.

Der APRI war bei den Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose (Mittelwert 0,98) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 0,48) ($p<0,0001$, einseitig getestet; Mann Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung).

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand der APRI-Werte in zwei etwa gleich große Gruppen eingeteilt (*cut-off* 0,98 [69]) (s. Tabelle 21). Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem APRI und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=24,52$, $p<0,0001$). Ein APRI von $>0,98$ erwies sich als Risikofaktor für eine fortgeschrittene Fibrose (OR=7,39; 95% KI 3-17,9).

		APRI		Total
		$< 0,98$	$\geq 0,98$	
Fibrose	nicht fortgeschritten	226	21	247
	fortgeschritten	16	11	27
Total		242	32	274

Tabelle 21. Die fortgeschrittene Fibrose und der APRI

2.4.3. FIB4-Index

Der FIB4-Index und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,43$, $p<0,0001$). Ein höherer FIB4-Index korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose.

Der FIB-4-Index war bei den Patienten mit fortgeschrittener Fibrose (Mittelwert 3,00) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert 1,11) ($p<0,0001$, einseitig getestet; Mann Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung).

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand eines *cut-off*-Wertes aus der Literatur [106] in zwei Gruppen eingeteilt (s. Tabelle 22). Der χ^2 -Test (Fisher's exact Test) zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem FIB-4-Index und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=59,33$, $p<0,0001$). Ein FIB-4-Index von $\geq 1,3$ erwies sich als Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose. Das OR für eine fortgeschrittene Fibrose bei den Patienten mit einem FIB4-Index $\geq 1,3$ war 82,4 (OR=82,4; 95% KI 10,9-620,35) im Vergleich zu den Patienten mit einem FIB4-Index $< 1,3$.

		FIB4-Index		Total
		$< 1,3$	$\geq 1,3$	
Fibrose	nicht fortgeschritten	187	59	246
	fortgeschritten	1	26	27
Total		188	85	273

Tabelle 22. Die fortgeschrittene Fibrose und ein FIB4-Index $\geq 1,3$

2.4.4. NFS (NAFLD Fibrosis Score)

Der NFS und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r=0,49$, $p<0,001$, einseitig getestet). Ein höherer NFS korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose.

Der NFS war bei den Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose (Mittelwert $0,33\pm 1,16$) höher als bei den Patienten ohne fortgeschrittene Fibrose (Mittelwert $-2,3\pm 1,49$) ($p<0,001$, zweiseitig getestet). Zur weiteren Analyse wurden die Patienten nach der Literatur in zwei Gruppen eingeteilt [104] (s. Tabelle 23). Der χ^2 -Test zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem NFS und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=43,19$, $p<0,001$). Ein NFS von $> -1,455$ erwies sich als Risikofaktor für eine fortgeschrittene Fibrose (OR=31,66; 95% KI 7.27-137,85).

		NFS		Total
		$\leq -1,455$	$> 1,455$	
Fibrose	nicht fortgeschritten	152	60	212
	fortgeschritten	2	25	27
	Total	154	85	239

Tabelle 23. Die fortgeschrittene Fibrose und der NFS

2.4.5. BAAT-Score

Der BAAT-Score und die fortgeschrittenen Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,18$, $p=0,001$) (s. Tabelle 24).

		BAAT					Total
		0	1	2	3	4	
Fibrose	nicht fortgeschritten	7	39	94	71	19	230
	fortgeschritten	0	0	9	11	5	25
	Total	7	39	103	82	24	255

Tabelle 24. Die fortgeschrittene Fibrose und BAAT-Score

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten nach der Literatur in zwei Gruppen eingeteilt [70] (s. Tabelle 25). Der χ^2 -Test (Fisher's exact Test) zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem BAAT-Score und einer fortgeschrittenen Fibrose ($\chi^2=6,1$, $p=0,005$).

		BAAT		Total
		0-1	2-4	
Fibrose	nicht fortgeschritten	46	184	230
	fortgeschritten	0	25	25
	Total	46	209	255

Tabelle 25. Die fortgeschrittene Fibrose und BAAT

2.4.6. BARD-Score

Der BARD-Score (s. Tabelle 26) und die fortgeschrittene Fibrose waren signifikant assoziiert ($r_s=0,37$, $p<0,0001$). Ein höherer BARD-Score korrelierte mit einer fortgeschrittenen Fibrose (s. Abb. 4).

	BARD					Total
	0	1	2	3	4	
nicht Fibrose fortgeschritten	80	120	45	19	7	271
fortgeschritten	1	3	5	6	12	27
Total	81	123	50	25	19	298

Tabelle 26. Die fortgeschrittene Fibrose und der BARD-Score

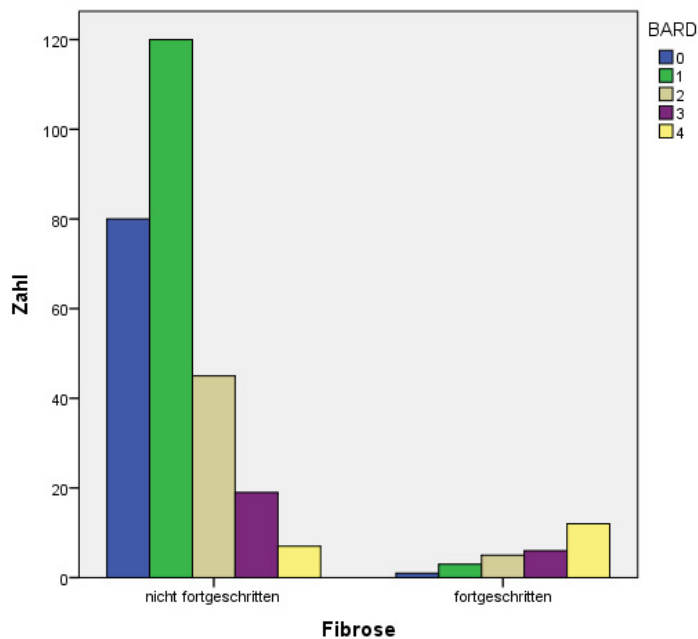


Abb. 4. Die fortgeschrittene Fibrose und der BARD-Score

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten nach der Literatur in zwei Gruppen eingeteilt [63] (s. Tabelle 27). Der χ^2 -Test (Fisher's exact Test) zeigte einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem BARD-Score und einer fortgeschrittenen

Fibrose ($\chi^2=39,56$, $p<0,0001$). Ein BARD-Score von 2-4 Punkten erwies sich als Risikofaktor für eine fortgeschrittene Fibrose (OR=16,1; 95% KI 5,4-48,4).

		BARD		Total
		0-1	2-4	
Fibrose	nicht fortgeschritten	200	71	271
	fortgeschritten	4	23	27
Total		204	94	298

Tabelle 27. Die fortgeschrittene Fibrose und der BARD-Score

2.5. Validierung der in der Literatur vorgeschriebenen prognostischen Marker

Die Genauigkeit der verschiedenen Prognosemarker für die Diagnose bzw. den Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose wurden mithilfe von ROC (*Receiver operating characteristic*)-Kurven untersucht. Für bestimmte in der Literatur vorgeschlagene und klinisch benutzte *cut-off*-Werte [60, 63, 69, 70, 104, 106] wurden die Sensitivität und Spezifität, der negative (NPV) und positive Vorhersagewert (PPV) sowie die Rate der falsch negativen Ergebnisse (RFN, die Differenz zwischen 100 und NPV) und die Rate der ersparten Leberbiopsien (Prozent der Werte, die unter dem *cut-off*-Wert lagen und eine nicht fortgeschrittene Fibrose vorhersagten) errechnet. Anschließend wurden diese Ergebnisse mit den aktuellen Daten aus der Literatur verglichen.

2.5.1. AST/ALT Ratio (AAR) (de Ritis-Quotient)

Die Fläche unter der Kurve für die fortgeschrittene Fibrose betrug $0,865 \pm 0,33$ ($p<0,001$) (s. Abb. 5). Bei einem *cut-off*-Wert von 0,5 errechneten sich eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 36,8%. Mit einem *cut-off*-Wert von 0,61 kam es zu einer Sensitivität von 92,6% und einer Spezifität von 58,8%. Für einen *cut-off*-Wert von 1,06 ergaben sich eine Sensitivität von 40,7% und eine Spezifität von 95,6%. Ein in der Literatur etablierter *cut-off*-Wert von 0,8 [60] ergab eine Sensitivität von 77,8% und eine Spezifität von 86% (s. Tabelle 28).

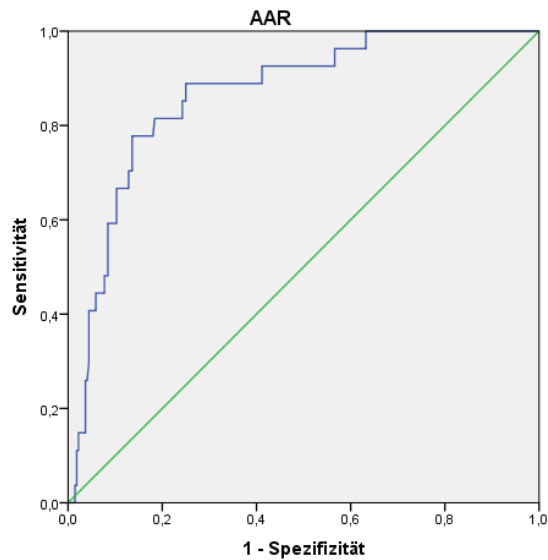


Abb. 5. ROC-Kurve für AAR

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
AAR	N	234	6	240
	% innerhalb AAR	97,5%	2,5%	100,0%
	≤ 0,8			
	% innerhalb Fibrose	86,0%	22,2%	80,3%
	% of Total	78,3%	2,0%	80,3%
	N	38	21	59
	% innerhalb AAR	64,4%	35,6%	100,0%
	> 0,8			
	% innerhalb Fibrose	14,0%	77,8%	19,7%
	% of Total	12,7%	7,0%	19,7%

Tabelle 28. Die fortgeschrittene Fibrose und das AAR (cut-off 0,8)

Für den cut-off-Wert 0,8 ergaben sich ein PPV (*positive predictive value*) von 35,6% und ein NPV (*negative predictive value*) von 97,5%.

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand eines *cut-off*-Wertes von 1, der im klinischen Alltag einfacher zu errechnen ist, in zwei Gruppen eingeteilt (s. Tabelle 29).

			Fibrose		Total
			nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
AAR	≤ 1	N	253	15	268
		% innerhalb AAR	94,4%	5,6%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	93,4%	55,6%	89,9%
	> 1	N	18	12	30
		% innerhalb AAR	60,0%	40,0%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	6,6%	44,4%	10,1%
Total		N	271	27	298
		% innerhalb AAR	90,9%	9,1%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 29. Die fortgeschrittene Fibrose und das AAR (cut-off 1)

Ein *cut-off*-Wert von 1 führte zu einer Sensitivität von 44,4% und einer Spezifität von 93,4% sowie zu einer PPV von 40% und einer NPV von 94,4%.

2.5.2. APRI

Die Fläche unter der Kurve für die fortgeschrittene Fibrose betrug $0,831 \pm 0,038$ ($p < 0,001$) (s. Abb. 6).

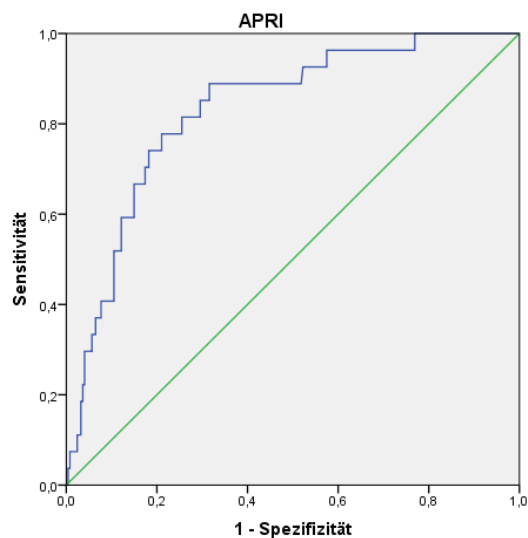


Abb. 6. Die ROC-Kurve für APRI

Bei einem *cut-off*-Wert von 0,328 errechneten sich eine Sensitivität von 96,3% und eine Spezifität von 42,5%. Mit einem *cut-off*-Wert von 0,58 kam es zu einer Sensitivität von 81,5% und einer Spezifität von 74,5%. Ein *cut-off*-Wert von 1,16 ergab eine

Sensitivität von 29,6% und eine Spezifität von 95,1%. Für einen in der Literatur [69] etablierten *cut-off*-Wert von 0,98 betrugen die Sensitivität 40,7% und die Spezifität 91,5% (s. Tabelle 30).

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
APRI	N	226	16	242
	≤ 0,98 % innerhalb APRI	93,4%	6,6%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	91,5%	59,3%	88,3%
	N	21	11	32
	> 0,98 % innerhalb APRI	65,6%	34,4%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	8,5%	40,7%	11,7%
Total	N	247	27	274
	% innerhalb APRI	90,1%	9,9%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 30. Die fortgeschrittene Fibrose und der APRI (*cut-off* 0,98)

Für den *cut-off*-Wert 0,98 betrugen der PPV (*positive predictive value*) 34,4% und der NPV (*negative predictive value*) 93,4%. Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand eines im klinischen Alltag einfachen anzuwendenden *cut-off*-Wertes von 1 in zwei Gruppen eingeteilt.

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
APRI	N	228	16	244
	≤ 1 % innerhalb APRI	93,4%	6,6%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	92,3%	61,5%	89,4%
	N	19	10	29
	> 1 % innerhalb APRI	65,5%	34,5%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	7,7%	38,5%	10,6%
Total	N	247	26	273
	% innerhalb APRI	90,5%	9,5%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 31. Die fortgeschrittene Fibrose und der APRI (*cut-off* 1)

Ein *cut-off*-Wert von 1 führte zu einer Sensitivität von 38,5% und einer Spezifität von 92,3% sowie zu einer PPV von 34,5% und einer NPV von 93,4% (s. Tabelle 31).

2.5.3. FIB-4-Index

Die Fläche unter der Kurve für die fortgeschrittene Fibrose betrug $0,925 \pm 0,023$ ($p < 0,001$) (s. Abb. 7).

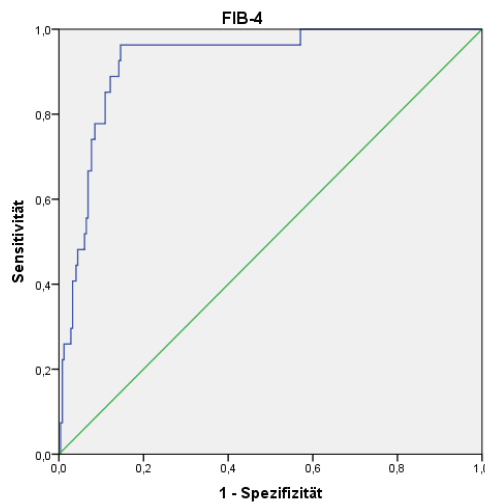


Abb. 7. Die ROC-Kurve für den FIB-4-Index

Bei einem *cut-off*-Wert von 0,759 errechneten sich eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 42,9%. Mit einem *cut-off*-Wert von 1,6 kam es zu einer Sensitivität von 96,3% und einer Spezifität von 85,4%. Ein in der Literatur [106] etablierter *cut-off*-Wert von 1,3 ergab eine Sensitivität von 96,3% und eine Spezifität von 76,1% (s. Tabelle 32). Für einen anderen ebenfalls in der Literatur vorgeschlagenen *cut-off*-Wert [106] von 2,7 betrugen die Sensitivität 48,1% und die Spezifität 95,1% (s. Tabelle 33).

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
FIB4	N	187	1	188
	≤ 1,3 % innerhalb FIB4	99,5%	0,5%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	76,0%	3,7%	68,9%
	N	59	26	85
	> 1,3 % innerhalb FIB4	69,4%	30,6%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	24,0%	96,3%	31,1%
Total	N	246	27	273
	% innerhalb FIB4	90,1%	9,9%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 32. Die fortgeschrittene Fibrose und der FIB-4-Index (cut-off 1,3)

Für einen cut-off-Wert bei 1,3 betrug die PPV (*positive predictive value*) 30,6% und die NPV (*negative predictive value*) 99,5%.

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
FIB4	N	235	14	249
	≤ 2,7 % innerhalb FIB4	94,4%	5,6%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	95,1%	51,9%	90,9%
	N	12	13	25
	> 2,7 % innerhalb FIB4	48,0%	52,0%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	4,9%	48,1%	9,1%
Total	N	247	27	274
	% innerhalb FIB4	90,1%	9,9%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 33. Die fortgeschrittene Fibrose und der FIB-4-Index (cut-off 2,7)

Ein *cut-off*-Wert von 2,7 ergab eine Sensitivität von 48,1% und eine Spezifität von 95,1% sowie eine PPV von 52% und eine NPV von 94,4%.

2.5.4. NFS

Die Fläche unter der Kurve für die fortgeschrittene Fibrose betrug $0,919 \pm 0,025$ ($p < 0,001$) (s. Abb. 8).

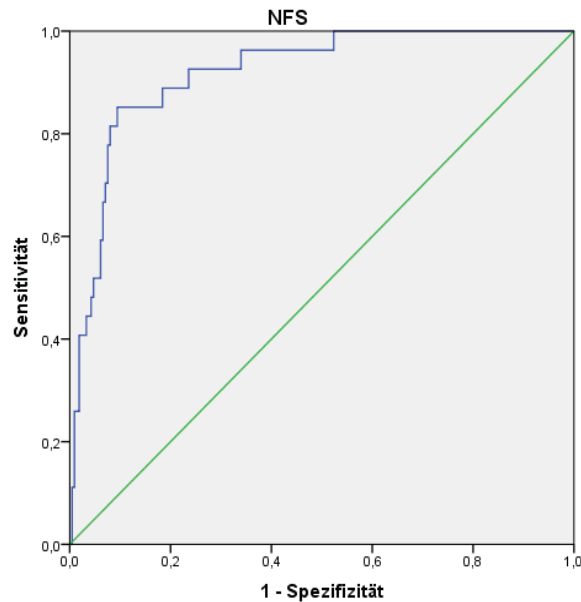


Abb. 8. Die ROC-Kurve für NFS

Bei einem *cut-off*-Wert von -2,413 errechneten sich eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 47,6%. Mit einem *cut-off*-Wert von -1,695 kam es zu einer Sensitivität von 96,3% und einer Spezifität von 66%. Ein *cut-off*-Wert von -1,478 ergab eine Sensitivität von 92,6% und eine Spezifität von 71,7%. Für einen *cut-off*-Wert, der bei 0,269 lag, ergaben sich eine Sensitivität von 44,4% und eine Spezifität von 95,8%.

			Fibrose		Total
			nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
NFS	$\leq -1,455$	N	152	2	154
		% innerhalb NFS	98,7%	1,3%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	71,7%	7,4%	64,4%
	$> -1,455$	N	60	25	85
		% innerhalb NFS	70,6%	29,4%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	28,3%	92,6%	35,6%
Total		N	212	27	239
		% innerhalb NFS	88,7%	11,3%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 34. Die fortgeschrittene Fibrose und der NFS (*cut-off* -1,455)

Ein in der Literatur [104] etablierter *cut-off*-Wert von -1,455 führte zu einer Sensitivität von 92,6% und einer Spezifität von 71,7% sowie zu einem PPV von 29,4% und einem NPV von 98,7% (s. Tabelle 34).

			Fibrose		Total
			nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
NFS	N		207	16	223
	<0,676	% innerhalb NFS	92,8%	7,2%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	97,6%	59,3%	93,3%
	N		5	11	16
	≥0,676	% innerhalb NFS	31,3%	68,8%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	2,4%	40,7%	6,7%
Total	N		212	27	239
		% innerhalb NFS	88,7%	11,3%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 35. Die fortgeschrittene Fibrose und der NFS (*cut-off* 0,676)

Für einen ebenfalls in der Literatur [104] vorgeschlagenen *cut-off*-Wert von 0,676 ergaben sich eine Sensitivität von 40,7% und eine Spezifität von 97,6% sowie ein PPV (*positive predictive value*) von 68,8% und ein NPV (*negative predictive value*) von 92,8% (s. Tabelle 35).

			Fibrose		Total
			nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
NFS	N		140	1	141
	≤-1,695	% innerhalb NFS	99,3%	0,7%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	66,0%	3,7%	59,0%
	N		72	26	98
	>-1,695	% innerhalb NFS	73,5%	26,5%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	34,0%	96,3%	41,0%
Total	N		212	27	239
		% innerhalb NFS	88,7%	11,3%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 36. Die fortgeschrittene Fibrose und der NFS (*cut-off* -1,695)

Für einen *cut-off*-Wert von -1,695 ergaben sich ein PPV von 26,5% und ein NPV von 99,3% (s. Tabelle 36).

2.5.5. Der BAAT-Score

Die Fläche unter der Kurve für die fortgeschrittene Fibrose betrug $0,673 \pm 0,051$ ($p < 0,005$) (s. Abb. 9).

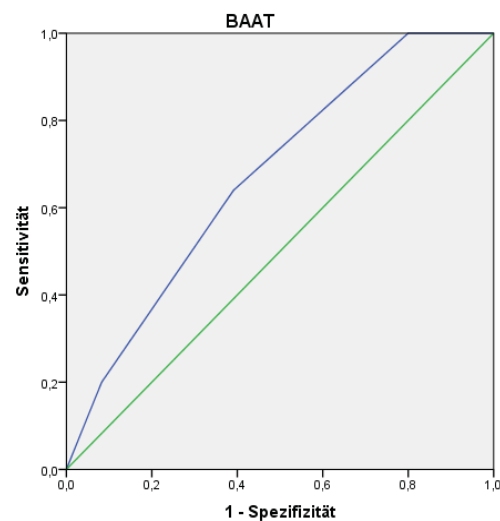


Abb. 9. Die ROC-Kurve für den BAAT-Score

Bei einem *cut-off* von 0 (eine Gruppe mit 0 Punkten und die andere mit 1-4 Punkten) errechneten sich eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 3%. Mit einem in der Literatur beschriebenen *cut-off* von 1 Punkt [70] (eine Gruppe mit 0-1 Punkten, die andere mit 2-4 Punkten) kam es zu einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 20% (s. Tabelle 37). Ein *cut-off* von 2 Punkten ergab eine Sensitivität von 64% und eine Spezifität von 60,9% (s. Tabelle 38). Für einen *cut-off* von 3 Punkten galten eine Sensitivität von 20% und eine Spezifität von 91,7%.

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
BAAT	N	46	0	46
	0-1 % innerhalb BAAT	100,0%	0,0%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	20,0%	0,0%	18,0%
	N	184	25	209
	2-4 % innerhalb BAAT	88,0%	12,0%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	80,0%	100,0%	82,0%
Total	N	230	25	255
	% innerhalb BAAT	90,2%	9,8%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 37. Die fortgeschrittene Fibrose und der BAAT-Score

Für einen *cut-off*-Wert von 2 Punkten (eine Gruppe mit 0-1 Punkten, die andere mit 2-4 Punkten) ließen sich ein PPV von 12% und ein NPV von 100% dokumentieren.

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
BAAT	N	140	9	149
	0-2 % innerhalb BAAT	94,0%	6,0%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	60,9%	36,0%	58,4%
	N	90	16	106
	3-4 % innerhalb BAAT	84,9%	15,1%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	39,1%	64,0%	41,6%
Total	N	230	25	255
	% innerhalb BAAT	90,2%	9,8%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 38. Die fortgeschrittene Fibrose und der BAAT-Score

Nimmt man ein *cut-off* von 2 Punkten (eine Gruppe mit 0-2 Punkten, die andere mit 3-4 Punkten) betragen der PPV 15,1% und der NPV 94%.

2.5.6. Der BARD-Score

Die Fläche unter der Kurve für die fortgeschrittene Fibrose betrug $0,862 \pm 0,041$ ($p < 0,001$) (s. Abb. 10).

Bei einem *cut-off* zwischen 0 und 1 Punkten errechneten sich eine Sensitivität von 96,3% und eine Spezifität von 29,5%. Mit einem *cut-off* zwischen 1 und 2 Punkten kam es zu einer Sensitivität von 85,2% und einer Spezifität von 73,8% (s. Tabelle 39). Ein *cut-off* zwischen 2 und 3, der in der Literatur beschrieben wurde [63], ergab eine Sensitivität von 66,7% und eine Spezifität von 90,4% (s. Tabelle 40). Für einen *cut-off* zwischen 3 und 4 ergaben sich eine Sensitivität von 44,4% und eine Spezifität von 97,4%.

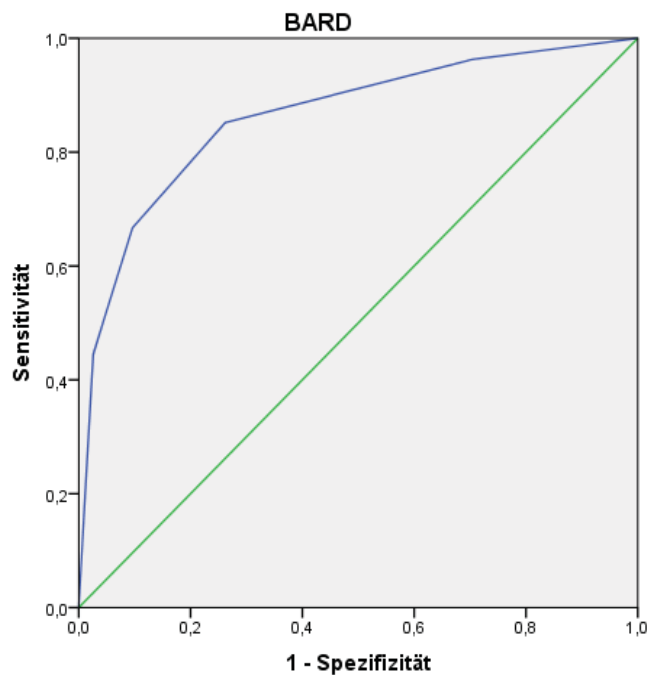


Abb. 10. Die ROC-Kurve für den BARD-Score

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
BARD	N	200	4	204
	0-1 % innerhalb BARD	98,0%	2,0%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	73,8%	14,8%	68,5%
	N	71	23	94
	2-4 % innerhalb BARD	75,5%	24,5%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	26,2%	85,2%	31,5%
Total	N	271	27	298
	% innerhalb BARD	90,9%	9,1%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 39. Die fortgeschrittene Fibrose und der BARD-Score (*cut-off* zwischen 1 und 2)

Für einen *cut-off*-Wert zwischen 1 und 2 ergaben sich ein PPV von 24,5% und ein NPV von 98%.

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
BARD	N	245	9	254
	0-2 % innerhalb BARD	96,5%	3,5%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	90,4%	33,3%	85,2%
	N	26	18	44
	3-4 % innerhalb BARD	59,1%	40,9%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	9,6%	66,7%	14,8%
Total	N	271	27	298
	% innerhalb BARD	90,9%	9,1%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 40. Die fortgeschrittene Fibrose und der BARD-Score (*cut-off* zwischen 2 und 3)

Ein *cut-off*-Wert zwischen 2 und 3 führte zu einem PPV von 40,9% und einem NPV von 96,5%.

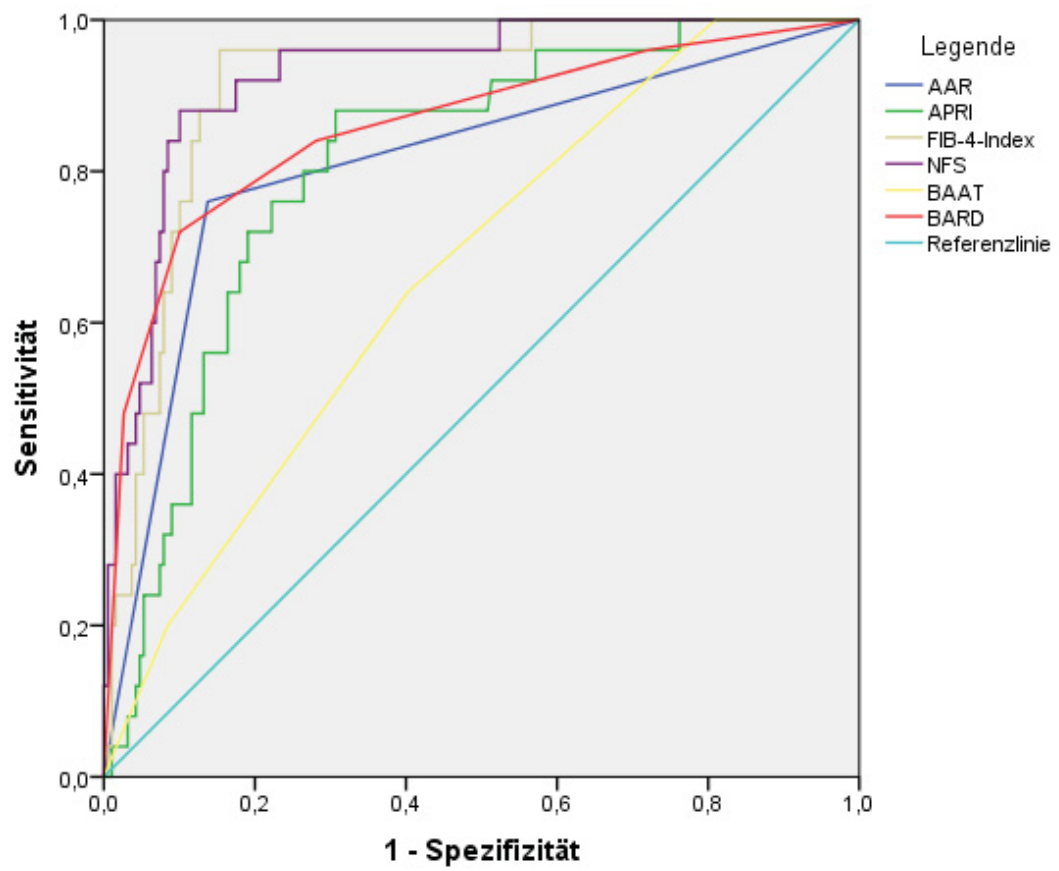


Abb. 11. Die ROC-Kurven für alle getestete Marker

Fibrosemarker	AUROC	cut-off	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	RFN (%)	Ersparte Leberbiopsien (%)
AAR	0,865	0,8	77,8	86	35,6	97,5	2,5	80,3
		1	44,4	93,4	40	94,4	5,6	89,9
APRI	0,831	0,98	40,7	91,5	34,4	93,4	6,6	88,3
		1	38,5	92,3	34,5	93,4	6,6	89,4
FIB-4-Index	0,925	1,3	96,3	76	30,6	99,5	0,5	68,9
		2,7	48,1	95,1	52	94,4	5,6	90,9
NFS	0,919	-1,455	92,6	71,7	29,4	98,7	1,3	64,4
		0,676	40,7	97,6	68,8	92,8	7,2	93,3
		-1,695	96,3	66	26,5	99,3	0,7	59
BAAT-Score	0,673	< 2	100	20	12	100	0	18
		< 3	64	60,9	15,1	94	6	58,4
BARD-Score	0,862	< 2	85,2	73,8	24,5	98	2	68,5
		< 3	66,7	90,4	40,9	96,5	3,5	85,2

Tabelle 41. Vergleich aller Fibrosemarker mit verschiedenen cut-off-Werten.
Se Sensitivität, **Sp** Spezifität, **PPV** positive predictive value (positiver Vorhersagewert),
NPV negative predictive value (negativer Vorhersagewert), **RFN** Rate der falsch negativen
Ergebnisse.

2.6. Neue nicht-invasive Fibrosemarker

2.6.1. Die Erstellung eines Regressionsmodells zur Erkennung einer Fibrose F3-4

Anhand einer binären logistischen Regression wurden die folgenden Parameter zunächst univariat getestet: Geschlecht, Alter, BMI, Nüchtern-BZ, HbA1c, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyzeride, Harnsäure, Ferritin, GOT, GPT, GGT, AP, Gesamtbilirubin, Albumin, Thrombozyten und Quick (s. Tabelle 42). Ein p-Wert von $\leq 0,1$ ergab sich für Alter, BMI, Nüchtern-BZ, HbA1c, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Ferritin, GOT, GGT, Albumin, Thrombozyten und Quick.

Parameter	Statistische Signifikanz (p)
Geschlecht	0,53
Alter	< 0,001
BMI	0,1
Nüchtern-BZ	< 0,001
HbA1c	0,004
Gesamtcholesterin	0,001
HDL-Cholesterin	0,08
LDL-Cholesterin	0,002
Triglyzeriden	0,39
Harnsäure	0,84
Ferritin	0,03
GOT	0,007
GPT	0,29
GGT	0,007
AP	0,81
Gesamtbilirubin	0,34
Albumin	< 0,001
Thrombozyten	< 0,001
Quick	< 0,001

Tabelle 42. Univariate binäre logistische Regressionen für die fortgeschrittene Fibrose

Eine binäre logistische Regression aus Alter, BMI und den Laborparametern Nüchtern-BZ, HbA1c, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Ferritin, GOT, GGT, Albumin, Thrombozyten und Quick führte zur Entwicklung eines prädiktiven

Regressionsmodells für die fortgeschrittene Fibrose. Die Prädiktoren Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, Quick, HbA1c und BMI erklärten in der binären logistischen Regression 80,7% der Varianz (Nagelkerke R^2) für das Kriterium der fortgeschrittenen Fibrose F3-4 ($p < 0,001$) (s. Tabelle 43). Als signifikante Prädiktoren erwiesen sich dabei LDL-Cholesterin, Quick und BMI ($p < 0,05$) und die statistische Signifikanz war grenzwertig für Gesamtcholesterin und HbA1c.

Die vollständige Regressionsgleichung lautete:

$$\text{Index 1} = 0,043 \times \text{Cholesterin} - 0,103 \times \text{LDL-Cholesterin} - 0,243 \times \text{Quick} + 0,87 \times \text{HbA1c} + 0,36 \times \text{BMI} + 7,648$$

Index	Prädiktoren	Nagelkerke R^2	Richtige Zuordnung (%)	Regressionsgleichung
1	BMI, Gesamtcholesterin, HbA1c, LDL-Cholesterin, Quick	0,805	80,7	$y = 0,043 \times \text{Cholesterin} - 0,103 \times \text{LDL-Cholesterin} - 0,243 \times \text{Quick} + 0,87 \times \text{HbA1c} + 0,36 \times \text{BMI} + 7,648$

Tabelle 43. Regressionsmodell für den vorgeschlagenen Fibrosemarker (Index 1)

Für dieses prädiktive Modell wurde eine ROC-Kurve erstellt. Die Fläche unter der Kurve (AUROC) betrug $0,957 \pm 0,27$ ($p < 0,001$) (s. Abb. 12). Nimmt man einen cut-off Wert von -4,48 betragen die Sensitivität 100% und die Spezifität 59,7%. Bei einem cut-off-Wert von -0,229 errechnen sich eine Sensitivität von 93,8% und eine Spezifität von 94%. Bei einem cut-off-Wert von 3,61 betrug die Sensitivität 50% und die Spezifität 100%.

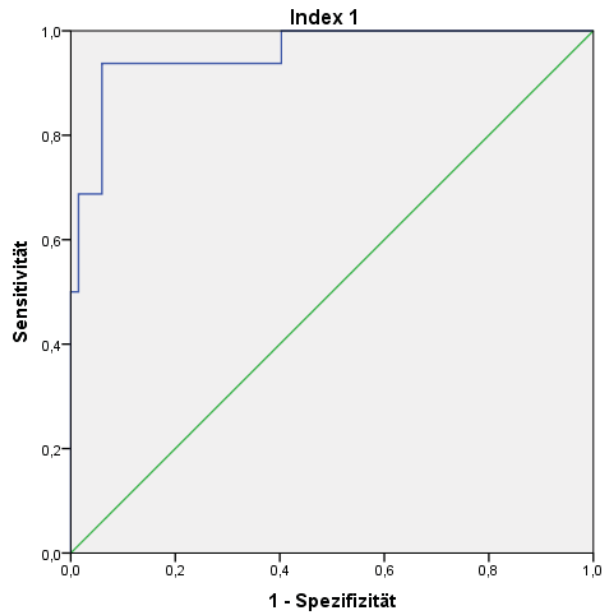


Abb. 12. Die ROC-Kurve für das Regressionsmodell $Index\ 1 = 0,043 \times Cholesterin - 0,103 \times LDL\text{-}Cholesterin - 0,243 \times Quick + 0,87 \times HbA1c + 0,36 \times BMI + 7,648$

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand eines *cut-offs* von - 0,229 in zwei Gruppen eingeteilt (s. Tabelle 44).

			Fibrose		Total
			nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
Index 1	N		63	1	64
	< - 0,229	% innerhalb Index 1	98,4%	1,6%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	94,0%	6,7%	78,0%
	N		4	14	18
	≥ - 0,229	% innerhalb Index 1	22,2%	77,8%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	6,0%	93,3%	22,0%
Total	N		67	15	82
		% innerhalb Index 1	81,7%	18,3%	100,0%
		% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 44. Die fortgeschrittene Fibrose und der Index 1 (*cut off* - 0,229)

Für diesen *cut-off* war der PPV 77,8% und der NPV 98,4%. Die Rate der falsch negativen Ergebnisse betrug 1,6%. Der Prozentsatz der eventuell ersparten Leberbiopsien lag bei 78%.

Anhand der Prädiktoren aus dem o. g. Regressionsmodell wurde ein zweiter einfacher zu errechnender Score erstellt:

Index 2 = BMI x HbA1c x Gesamtcholesterin / Quick / LDL-Cholesterin

Die AUROC für diesen Index war $0,953 \pm 0,022$, $p < 0,001$ (s. Abb. 13).

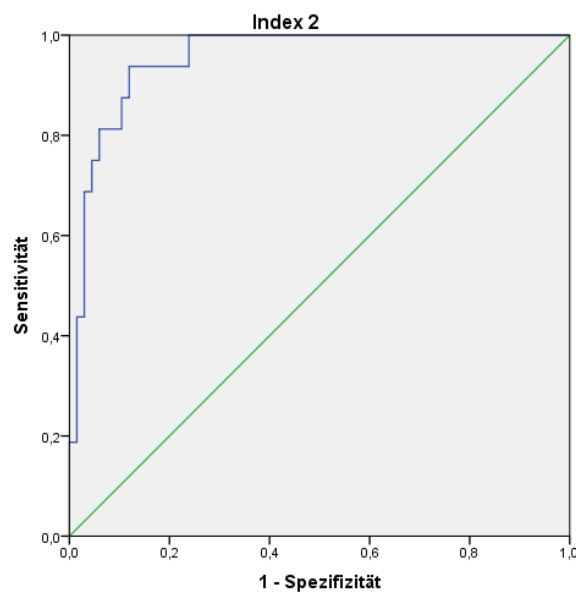


Abb. 13. Die ROC-Kurve für den Index 2

Nimmt man ein *cut-off* von 3,27 betragen die Sensitivität 100% und die Spezifität 76,1%. Bei einem *cut-off*-Wert von 4,61 betragen die Sensitivität 75% und die Spezifität 95,5%. Bei einem *cut-off*-Wert von 5,41 betragen die Sensitivität 50% und die Spezifität 97%.

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten anhand eines *cut-offs* von 4,61 in zwei Gruppen eingeteilt (s. Tabelle 44).

		Fibrose		Total
		nicht fortgeschritten	fortgeschritten	
Index 2	N	64	4	68
	≤4,61 % innerhalb Index 2	94,1%	5,9%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	95,5%	25,0%	81,9%
	N	3	12	15
	>4,61 % innerhalb Index 2	20,0%	80,0%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	4,5%	75,0%	18,1%
Total	N	67	16	83
	% innerhalb Index 2	80,7%	19,3%	100,0%
	% innerhalb Fibrose	100,0%	100,0%	100,0%

Tabelle 44. Die fortgeschrittene Fibrose und der Index 2 (*cut off* 4,61)

Für diesen *cut-off* betrugen die PPV 80% und die NPV 94,1%. Die Rate der falsch negativen Ergebnisse betrug 5,9%. Die Prozentzahl der eventuell ersparten Leberbiopsien lag bei 81,9%.

Prognostische Marker	AUROC	Std. Abweichung	Asympt. Sig.
Index 1 (Regressionsmodell)	,957	,027	< 0,001
Index 2 (BMI*HbA1c*Gesamtcholesterin/LDL-C/Quick)	,953	,022	< 0,001

Tabelle 45. AUROC's für die vorgeschlagenen Prognose-Marker

Fibrosemarker	AUROC	cut-off	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	RFN (%)	Ersparte Leber- biopsien
AAR (de Ritis)	0,865	0,8	77,8	86	35,6	97,5	2,5	80,3
		1	44,4	93,4	40	94,4	5,6	89,9
APRI	0,831	0,98	40,7	91,5	34,4	93,4	6,6	88,3
		1	38,5	92,3	34,5	93,4	6,6	89,4
FIB-4-Index	0,925	1,3	96,3	76	30,6	99,5	0,5	68,9
		2,7	48,1	95,1	52	94,4	5,6	90,9
NFS	0,919	-1,455	92,6	71,7	29,4	98,7	1,3	64,4
		0,676	40,7	97,6	68,8	92,8	7,2	93,3
		-1,695	96,3	66	26,5	99,3	0,7	59
BAAT-Score	0,673	< 2	100	20	12	100	0	18
		< 3	64	60,9	15,1	94	6	58,4
BARD-Score	0,862	< 2	85,2	73,8	24,5	98	2	68,5
		< 3	66,7	90,4	40,9	96,5	3,5	85,2
Index 1	0,957	-0,229	93,3	94	77,8	98,4	1,6	78
Index 2	0,953	4,61	75	95,5	80	94,1	5,9	81,9

Tabelle 46. Vergleich aller Fibrosemarker mit verschiedenen *cut-off*-Werten

Se Sensitivität, Sp Spezifität, PPV positive predictive value (positiver Vorhersagewert), NPV negative predictive value (negativer Vorhersagewert), RFN Rate der falsch negativen Ergebnisse.

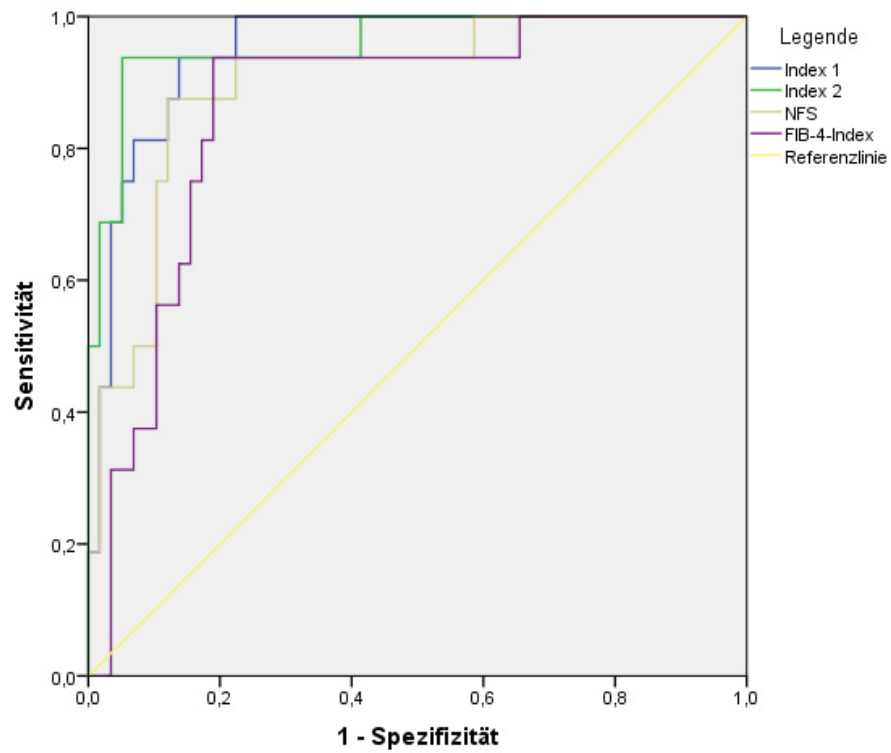


Abb. 14. Die ROC-Kurven für die neuen Marker im Vergleich zu NFS und FIB-4-Index

Diskussionen

In dieser retrospektiven Arbeit wurde eine große Patientenkohorte mit histologisch gesicherter NAFLD bezüglich der demographischen, anthropometrischen, klinischen, laborchemischen und histologischen Daten charakterisiert. Darüber hinaus wurden Risikofaktoren und prädiktive Modelle für eine fortgeschrittene Fibrose (F3-F4) überprüft. Bei der Fettlebererkrankung ist der Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose (F3-F4) ein wichtiges Ziel, da die Fibrose der Hauptprädiktor der Mortalität ist [57, 58]. Nach allen wichtigen aktuellen Leitlinien [4-6] ist die histologische Bestimmung des Fibrosegrades in der Leberbiopsie hierfür die verlässliche Technik, die aber invasiv und mit Risiken assoziiert ist. Nicht-invasive Fibrosemarker sollten insbesondere einen hohen negativen Vorhersagewert (NPV) zum Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose (F3-F4) haben, damit man unnötige Leberbiopsien vermeiden kann. Sechs verschiedene in der Literatur beschriebene nicht-invasive prognostische Marker wurden in der jetzigen Patientenkohorte validiert. Außerdem wurde geprüft, wie gut die mit Hilfe der aktuellen Daten errechnete multivariate Regressionsanalyse eine fortgeschrittene Fibrose (F3-F4) vorhersagen kann.

In den aktuellen deutschen Leitlinien wird bei Patienten mit der sonographischen Erstdiagnose einer NAFLD eine Evaluation mithilfe des nicht-invasiven Fibrosemarkers NFS empfohlen [4]. Wenn eine fortgeschrittenen Fibrose so nicht ausgeschlossen werden kann, wird eine Elastographie und ggf. eine Leberbiopsie empfohlen [4]. Die Elastographie ist in Deutschland keine Kassenleistung und bisher nicht in der breiten klinischen Praxis verfügbar. Bei der großen Mehrzahl der in dieser Kohorte untersuchten Patienten waren keine Elastographiedaten verfügbar. Deshalb sind frei verfügbare, kostenlose nicht-invasive Fibrosemarker besonders wichtig.

Der Nachweis einer fortgeschrittenen Fibrose (F3-F4) führt nach den deutschen Leitlinien [4] zu zwei Konsequenzen:

- 1) Die Therapie der Fettlebererkrankung sollte intensiviert werden.
- 2) Patienten mit einer Fibrose F3-4 sollten in ein Überwachungsprogramm aufgenommen werden, um ein HCC möglichst frühzeitig zu erkennen.

In den europäischen und amerikanischen Leitlinien wird außer dem NFS auch der FIB4-Index zum Ausschluss der fortgeschrittenen Fibrose empfohlen, da diese Scoresysteme besser validiert sind als andere [6].

Eine fortgeschrittene Fibrose (F3-F4) war in unserer Arbeit nur bei 9% der Patienten nachweisbar. Diese Quote ist geringer im Vergleich zu älteren Studien, bei denen eine Fibrose F3-4 bei 19%, 25% bzw. 31% vorlag [48, 60, 107]. In zwei kürzlich vorgestellten europäischen Kohorten von leberbiopsierten Fettleberpatienten hatten hingegen auch nur 12 % bzw. 16 % eine fortgeschrittene Fibrose F3-4. Beide Studien wurden bisher nur als Abstract bzw. als Poster publiziert [108, 109].

Die Häufigkeit einer fortgeschrittenen Fibrose in der Histologie hängt vor allem auch davon ab, welche Patienten eine Leberpunktion erhalten. Wie in den meisten früheren Studien war die Selektion der punktierten Patienten auch in der jetzigen Studie eine individuelle klinische Entscheidung und nicht prospektiv festgelegt.

Eine NASH ($NAS \geq 5$) hatten in der jetzigen Kohorte 48,7% der leberpunktierten Patienten und damit etwas seltener als in zwei früheren großen Studien [48, 107], die bei 57% bzw. 73% der Patienten eine NASH gefunden hatten.

Ähnlich wie in einer aktuellen großen europäischen Studie [107] korrelierte ein höheres Alter der Patienten auch in der jetzigen deutschen Kohorte mit einer fortgeschrittenen Fibrose. Der BMI war wie bei Patel et al. [110] mit der fortgeschrittenen Fibrose signifikant assoziiert.

Das Vorliegen eines Typ 2 Diabetes oder von HbA1c- bzw. Blutzuckerwerten im Risikobereich für einen Diabetes erwies sich auch in der aktuellen Kohorte als starker Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose ähnlich wie in einer aktuellen europäischen Kohorte [110]. Nur eine Minderheit der Patienten mit einer fortgeschrittenen Fibrose hatte keinen Diabetes und keine Werte im Risikobereich für einen Diabetes.

Mehrere Routine-Laborwerte wie Nüchten-BZ, HbA1c, Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin sowie AST, GGT, Gesamtbilirubin, Thrombozytenzahl, Quickwert und Albumin waren univariat signifikant mit der fortgeschrittenen Fibrose assoziiert. Die LDL-Cholesterinwerte korrelierten überraschenderweise signifikant negativ mit der fortgeschrittenen Fibrose. Ähnliche Ergebnisse wurden kürzlich auch in einer großen amerikanischen Studie dokumentiert [48].

Das Serumferritin zeigte einen statistisch schwachen positiven Zusammenhang mit der fortgeschrittenen Fibrose. Wenn das Ferritin als dichotome Variable mit einem *cut-off* von 300 mg/dl bei Frauen bzw. 400 mg/dl bei Männern untersucht wurde, lag keine signifikante Korrelation vor. Das Ferritin war im Gegensatz zu den Ergebnissen von Kowdley et al. [78] nach den jetzigen Daten also kein wesentlicher Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose.

Ein hoher Steatosegrad in der Histologie war signifikant mit einer fortgeschrittenen Fibrose assoziiert. Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Chalasani et al. [80] überein. Eine ausgeprägte Entzündung war ebenfalls mit der fortgeschrittenen Fibrose assoziiert. Das Vorliegen des Ballooning war hingegen eher negativ mit der fortgeschrittenen Fibrose assoziiert, wobei dieser Zusammenhang aber nur schwach war.

Ein höherer NAFLD-Aktivitätsscore korrelierte signifikant mit einer fortgeschrittenen Fibrose und ein NAS von ≥ 5 Punkten (Surrogat für die NASH-Diagnose) war ein Risikofaktor für die fortgeschrittene Fibrose.

Sechs in der Literatur beschriebene nicht invasive Fibrosemarker [56, 60, 62, 66, 69, 104, 111] wurden anhand der Daten aus der aktuellen deutschen Kohorte untersucht. Der Ritis-Quotient (AAR), APRI, FIB-4-Index, NFS und BARD-Score waren signifikant mit einer fortgeschrittenen Fibrose assoziiert. Ein De Ritis-Quotient $> 0,8$, ein APRI $> 0,98$, ein FIB-4-Index $> 1,3$, ein NFS $> -1,455$ und ein BAAT-Score von 2-4 Punkten waren Risikofaktoren für die fortgeschrittene Fibrose.

In unserer Patientenkohorte betrug die Fläche unter der ROC-Kurve (AUROC) für die Diagnose einer fortgeschrittenen Fibrose anhand des de Ritis-Quotienten 0,865 im Vergleich zu 0,83 bei McPherson et al. [60] und 0,742 bei Shah et al. [106]. Mit dem in der Literatur beschriebenen *cut-off*-Wert von 0,8 errechneten wir eine Sensitivität von 78% und eine Spezifität von 86%. Der APRI-Index zeigte eine AUROC von 0,831, besser als bei Shah et al. (0,73), aber nicht so gut wie bei Kruger et al. (0,85) [69, 106]. Der FIB-4-Index hatte mit 0,925 den höchsten AUROC-Wert unter den hier getesteten Markern. Ähnlich gute Ergebnisse für den FIB-4-Index wurden bisher noch nicht berichtet. In der Literatur wurden beim FIB-4-Index bisher AUROC-Werte von 0,80 bis 0,86 beschrieben [60, 106]. Der NFS zeigte in der jetzigen deutschen Kohorte einen AUROC-Wert von 0,92 und damit einen ähnlichen Wert wie in der initialen Validierungsstudie von Angulo et al. [104], der AUROC-Wert betrug hier 0,88. Der BARD-Score hatte in unserer Kohorte einen AUROC-Wert von 0,87, der damit etwas höher war als in anderen Studien, die Werte von 0,70-0,77 errechnet hatten [60, 106]. Insgesamt zeigten die o. g. Marker gute Ergebnisse für die Vorhersage einer fortgeschrittenen Fibrose. Die einzige Ausnahme unter den untersuchten Markern war der BAAT-Score, der nur einen AUROC-Wert von 0,67 erzielte. In der Literatur konnten wir keine AUROC-Werte für diesen Marker finden.

Der negative Vorhersagewert (NPV) lag für alle o.g. sechs Marker zwischen 93% und 100%, wenn *cut-off*-Werte aus der Literatur benutzt wurden. Unsere Daten zeigen also, dass man auch in einer deutschen Kohorte eine fortgeschrittene Fibrose mithilfe dieser Fibrosemarker verlässlich ausschliessen kann. In unserer Patientengruppe hätte man mithilfe des de Ritis-Quotients bei einem *cut-off* von 0,8 auf 80,3% der Leberbiopsien verzichten können mit lediglich 2% falsch-negativen Ergebnissen. Mithilfe des APRI hätten 88,3% der Biopsien erspart werden können (5,8% falsch-negative Ergebnisse). Mit dem FIB-4-Index, dem NFS und dem BARD-Score waren die Raten der potenziell ersparten Biopsien ähnlich: 68,9%, 64,4% und 68,5%; die Rate der falsch-negativen Ergebnisse betrugen nur 0,4%, 1,3% und 1,3%. Der BAAT-Score ist hingegen wenig nützlich; mit seiner Nutzung lag die Rate der potenziell ersparten Biopsien bei 18%.

Der positive Vorhersagewert (PPV) war bei Nutzung der o. g. *cut-offs* hingegen für alle sechs Scores niedrig (zwischen 12% und 35,6%), so dass diese nicht invasiven Marker nicht für die Diagnose, sondern nur für den Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose nützlich sind. Nur der NFS zeigte immerhin einen PPV von 68,8%, wenn der *cut-off*-Wert 0,676 benutzt wurde; damit lag der PPV in unserer Kohorte aber deutlich unter den 90%, die für den NFS als PPV in den deutschen Leitlinien angegeben wird [5].

Für die o. g. Scores wurden auch andere *cut-offs*, außer denen, die in der Literatur schon beschrieben waren, getestet. Diese neuen *cut-offs* konnten wir aus der Regressionsanalyse ableiten.

Wenn beim de Ritis-Quotient ein *cut-off* von 1 benutzt wurde, ergab sich ein hoher NPV von 94,4%, während der PPV nur 40% betrug. Ein de Ritis-Quotient von 1 (d.h. GOT ist höher als GPT) ist im klinischen Alltag der mit Abstand am einfachsten nutzbare Score. Mit diesem *cut-off* wären in unserer Patientengruppe 89,9% der Leberpunktionen nicht nötig gewesen; entsprechend niedrig lag die Rate der falsch negativen Ergebnisse (5,6%).

Auch beim APRI kann man mit dem Wert von 1 einen einfachen *cut-off*-Wert nutzen, mit dem sich eine hohe NPV (93,4%) und eine niedrige Rate an falsch negativen Ergebnisse ergab (6,4%).

Beim FIB-4-Index ergab sich für den *cut-off*-Wert von 2,7 ein NPV von 94,4%. Mit diesem *cut-off* hätten 90,9% der Leberbiopsien erspart werden können. Der NFS zeigte für den *cut-off*-Wert von 0,676 ein NPV von 92,8% und man hätte so 93,3% der Leberbiopsien sparen können. Der BARD-Score wurde auch für den *cut-off*-Wert < 3 getestet. Der NPV betrug dann 96,5%. Mit dieser Obergrenze hätte in 85,2% der Fälle

auf eine Leberbiopsie verzichtet werden können. Der BAAT-Score ergab für den *cut-off*-Wert < 3 eine NPV von 94%. Mit diesem cut-off lag die Rate der potenziell ersparten Leberbiopsien nur bei 58,4%.

Insgesamt zeigten sich bei allen diesen Markern mit den von uns vorgeschlagenen neuen Obergrenzen bessere Ergebnisse bezüglich der Rate der ersparten Leberbiopsien, wobei die falsch negativen Resultate nur gering anstiegen.

Außerdem wurde geprüft, wie gut die mit Hilfe der aktuellen Daten errechnete multivariate Regressionsanalyse eine fortgeschrittene Fibrose (F3-F4) ausschließen bzw. vorhersagen kann. In dieser Arbeit wurden so zwei neue nicht invasive Prognose-Scores für die fortgeschrittene Fibrose entwickelt. Beide Prognose-Scores zeigten bessere AUROC-Werte als FIB-4 oder NFS, die in der Literatur und in den amerikanischen und europäischen Leitlinien bevorzugt werden [4, 6].

Der Index 1, ein Regressionsmodell aus BMI, Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HbA1c und Quick ($0,043 \times \text{Cholesterin} - 0,103 \times \text{LDL-Cholesterin} - 0,243 \times \text{Quick} + 0,87 \times \text{HbA1c} + 0,36 \times \text{BMI} + 7,648$) ergab eine Fläche unter der Kurve von 0,957. Mithilfe eines *cut-off*-Werts von $- 0,229$ ergab dieser Index eine Sensitivität von 93,3%, eine Spezifität von 94%, einen PPV von 77,8% und einen NPV von 98,4%. 78% der Leberbiopsien hätten mit der Nutzung dieses Index erspart werden können mit einer Rate der falsch-negativen Ergebnisse von nur 1,6%. Die Stärke dieses Prognose-Scores ist die ebenfalls sehr gute Sensitivität, so dass dieser Score nicht nur zum Ausschluss, sondern auch zur Diagnose der fortgeschrittenen Fibrose mit nur 6% falsch positiven Ergebnissen benutzt werden kann. Dieser Prognose-Score berücksichtigt auch die zunächst scheinbar überraschende Tatsache, dass die fortgeschrittene Fibrose mit eher niedrigen LDL-Cholesterin-Werte assoziiert ist. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch in einer großen amerikanischen Studie mit mehr als 1000 NAFLD-Patienten [48]. Es bleibt zunächst ungeklärt, ob und welche Rolle das LDL-Cholesterin in der Fibrogenese bei der NAFLD spielt.

Der zweite neue Prognose-Score (Index 2) wurde aus den gleichen Parametern wie beim Index 1 errechnet. Zur besseren Nutzung im Alltag haben wir die Formel aber vereinfacht und aus der Gleichung „BMI x HbA1c x Gesamtcholesterin/LDL-C/Quick“ errechnet. Mit diesem vereinfachten Score ergibt sich auch ein hoher AUROC-Wert von 0,953. Bei einem cut-off-Wert von 4,61 zeigte der Index 2 eine Sensitivität von 75%, eine Spezifität von 95,5%, einen PPV von 80% und einen NPV 94,1%. Mit Nutzung dieses Index könnten 81,9% der Leberbiopsien erspart werden.

Die beiden neuen Prognose-Scores könnten auch im klinischen Alltag nützlich und einfach anzuwenden sein. Sie zeigten eine bessere Sensitivität und Spezifität im Vergleich zu den Markern, die in der Literatur schon beschrieben wurden. Weitere Studien zur Validierung dieser nicht-invasiven Prognosescores in anderen Population sind aber erforderlich.

Ähnlich wie in vielen anderen früheren Studien ist die primäre Selektion der Patienten auch eine Schwäche der vorliegenden Studie, da nicht prospektiv festlag, welcher Patient eine Leberpunktion erhielt. Nicht alle Patienten mit sonographischem oder laborchemischem Verdacht auf eine NAFLD wurden biopsiert, sondern eher Patienten mit zusätzlichen Risikofaktoren wie Diabetes mellitus oder Adipositas. Auch der Wunsch oder die Ablehnung der Patienten spielt für die Frage der Leberpunktion eine wichtige Rolle, wobei man diese Entscheidung prospektiv nur schwierig festlegen kann. Untersuchungen mit der transienten Elastographie (TE) wurden bei den meisten unserer Patienten nicht durchgeführt. In früheren Jahren stand das Verfahren gar nicht zur Verfügung. Bis heute ist die TE in Deutschland nicht überall verfügbar und keine Kassenleistung. Bei sehr adipösen Patienten wurden zudem technische Schwierigkeiten beschrieben [81]. In den aktuellen deutschen Leitlinien wird die TE erst nach der NFS-Berechnung und abhängig vom NFS-Wert empfohlen; je nach NFS und TE soll dann eine Leberpunktion erfolgen [5]. Dieser Ablauf (Leberpunktion nach TE bzw. TE nach NFS) ist unseres Wissens nicht ausreichend validiert.

Die vorliegenden Daten zeigen, dass nur sehr wenige Patienten ohne Typ 2-Diabetes und ohne Risikowerte für den Typ 2-Diabetes eine fortgeschrittene Fibrose haben. Auch mit dem sehr einfachen de Ritis-Quotienten kann man schon einen recht zuverlässigen Ausschluss einer fortgeschrittenen Fibrose erreichen. Hierzu muss man nur schauen, ob die AST höher als die ALT ist, was keine Rechenleistung erfordert. Auch Alter und BMI fließen in die klinische Abschätzung der Fibrose ein. In der Routine werden nur selten Scoresysteme benutzt, die eine Rechenleistung oder die Benutzung des Internet erfordern [113]. Die Kenntnis über die wenigen wesentlichen Parameter, die in die Scoresysteme eingehen, ist aber wichtig, da der Kliniker diese auch ohne formale Berechnung bewerten kann. Man erkennt anhand der jetzigen Daten, dass beim Fehlen der wichtigsten Prognoseparameter eine fortgeschrittene Fibrose sehr unwahrscheinlich ist. Alle diskutierten kostenpflichtigen Scoresysteme und Laboralgorithmen sind in Deutschland keine Kassenleistung und werden in der Routine kaum benutzt. Unter Diabetologen hatten nur 5,7 % jemals einen nicht-invasiven Leberfibrosetest verwendet

[112]. Wir stimmen mit Sanal [113] überein, dass nicht-invasive Prognosemarker nicht nur genau, sondern klinisch auch gut anwendbar sein sollten. Komplizierte Scores sind nach den vorliegenden Daten bei vielen Patienten nicht unbedingt erforderlich, da einfache Daten aus der klinischen Routine bereits eine zuverlässige Einschätzung des Leberfibrosegrades erlauben und so vielen Patienten eine Leberpunktion und weitere technische Untersuchungen ersparen können.

Schlussfolgerungen

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung ist eine wichtige Komponente des metabolischen Syndroms und geht einher mit einer erhöhten Gesamtmortalität und mit einer erhöhten hepatisch assoziierten Mortalität. Eine Herausforderung für den klinischen Alltag ist die Suche nach klinisch geeigneten nicht-invasiven diagnostischen Methoden, um eine fortgeschrittene Fibrose festzustellen oder auszuschließen. Idealerweise sollte ein nicht-invasiver Fibrosescore zum einen dazu beitragen, möglichst vielen Patienten invasive Untersuchungen wie die Leberbiopsie zu ersparen. Zum anderen sollte ein solcher nicht-invasiver Score auch dazu beitragen, aufwendige und nicht breit verfügbare Techniken wie Kernspinuntersuchungen und die transiente Elastographie zu vermeiden.

In dieser Arbeit wird eine große deutsche Patientengruppe mit histologisch nachgewiesener NAFLD charakterisiert. In dieser Kohorte werden verschiedene in der aktuellen Literatur beschriebene nicht-invasive Fibrosescores validiert. Außerdem werden neue nicht-invasive Scores entwickelt, um eine fortgeschrittene Fibrose präziser auszuschließen als dies mit den bisherigen Scores möglich war. Weitere Studien zur Validierung dieser Scores sind erforderlich. In der klinischen Routine werden nur selten Scoresysteme benutzt, die eine Rechenleistung oder die Benutzung des Internet erfordern. Die Kenntnis über die wenigen wesentlichen Parameter, die in die Scoresysteme eingehen, ist aber wichtig, da der Kliniker diese auch ohne formale Berechnung bewerten kann. Die jetzigen Daten zeigen, dass beim Fehlen der wichtigsten Prognoseparameter eine fortgeschrittene Fibrose sehr unwahrscheinlich ist und man auch mit einer klinischen Einschätzung vielen Patienten eine Leberpunktion und weitere technische Untersuchungen ersparen kann.

Bibliographie:

1. Angulo P., *Nonalcoholic fatty liver disease*. N Engl J Med, 2002. **346**(16): p. 1221-31.
2. Balmer M., Dufour J., *Nicht-alkoholische Steatohepatitis - von NAFLD zu MAFLD* Therapeutische Umschau, 2011; 68, p. 183-188.
3. Neuschwander-Tetri B.A., *Hepatic lipotoxicity and the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis: the central role of nontriglyceride fatty acid metabolites*. Hepatology, 2010. **52**(2): p. 774-88.
4. Marchesini et al., *EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2016. **64**(6):1388-402.
5. Roeb E et al, *S2k Leitlinie Nicht- alkoholische Fettlebererkrankungen AWMF Register Nr. 021-025*, 2015.
6. Chalasani N. et al., *The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases*. Hepatology, 2018. **67**(1): p. 328-357.
7. Chalasani N. et al., *The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association*. Hepatology, 2012. **55**(6): p. 2005-23.
8. Fabbrini E., Sullivan S., Klein S., *Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications*, 2010. Hepatology, **51**(2): p. 679-89.
9. Kleiner D.E. et al., *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2005. **41**(6): p. 1313-21.
10. Vanni E. et al., *From the metabolic syndrome to NAFLD or vice versa?* Dig Liver Dis, 2010. **42**(5): p. 320-30.
11. Cohen J.C., Horton J.D., Hobbs H.H., *Human fatty liver disease: old questions and new insights*. Science, 2011. **332**(6037): p. 1519-23.
12. Adams L.A., Lindor K.D., *Nonalcoholic fatty liver disease*. Ann Epidemiol, 2007. **17**(11): p. 863-9.
13. Targher G., Day C.P., Bonora E., *Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. N Engl J Med, 2010. **363**(14): p. 1341-50.
14. Vernon G., A. Baranova, Z.M. Younossi, *Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **34**(3): p. 274-85.

15. Adams L.A. et al., *The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study*. Gastroenterology, 2005. **129**(1): p. 113-21.
16. Marchesini G. et al., *Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome*. Hepatology, 2003. **37**(4): p. 917-23.
17. Hu K.C. et al., *Nonalcoholic fatty liver disease: updates in noninvasive diagnosis and correlation with cardiovascular disease*. World J Gastroenterol, 2014. **20**(24): p. 7718-29.
18. Suzuki A. et al., *Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population*. Hepatology, 2005. **41**(1): p. 64-71.
19. Hamaguchi M. et al., *The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease*. Ann Intern Med, 2005. **143**(10): p. 722-8.
20. Whalley S. et al., *Hepatology outpatient service provision in secondary care: a study of liver disease incidence and resource costs*. Clin Med, 2007. **7**(2): p. 119-24.
21. Lee J.Y. et al., *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*. J Hepatol, 2007. **47**(2): p. 239-44.
22. Caballeria L. et al., *Prevalence and factors associated with the presence of nonalcoholic fatty liver disease in an adult population in Spain*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2010. **22**(1): p. 24-32.
23. Bedogni G. et al., *Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study*. Hepatology, 2005. **42**(1): p. 44-52.
24. Browning J.D. et al., *Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity*. Hepatology, 2004. **40**(6): p. 1387-95.
25. Leite N.C. et al., *Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus*. Liver Int, 2009. **29**(1): p. 113-9.
26. Prashanth M. et al., *Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus*. J Assoc Physicians India, 2009. **57**: p. 205-10.
27. Dai W. et al., *Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis*. Medicine (Baltimore), 2017. **96**(39): p. e8179.
28. Ong J.P. et al., *Predictors of nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in morbidly obese patients*. Obes Surg, 2005. **15**(3): p. 310-5.
29. Rinella M.E., *Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review*. JAMA, 2015. **313**(22): p. 2263-73.

30. Das K. et al., *Nonobese population in a developing country has a high prevalence of nonalcoholic fatty liver and significant liver disease*. Hepatology, 2010. **51**(5): p. 1593-602.
31. Suzuki A. et al., *Regional anthropometric measures and hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic Fatty liver disease*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2010. **8**(12): p. 1062-9.
32. Baranova A. et al., *Systematic review: association of polycystic ovary syndrome with metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease*. Aliment Pharmacol Ther, 2011. **33**(7): p. 801-14.
33. Targher G. et al., *Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and its association with cardiovascular disease among type 2 diabetic patients*. Diabetes Care, 2007. **30**(5): p. 1212-8.
34. Zein C.O. et al., *Smoking and severity of hepatic fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2011. **54**(4): p. 753-9.
35. Suzuki A. et al., *Association between puberty and features of nonalcoholic fatty liver disease*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2012. **10**(7): p. 786-94.
36. Teli M.R. et al., *The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study*. Hepatology, 1995. **22**(6): p. 1714-9.
37. Caldwell S.H. et al., *NASH and cryptogenic cirrhosis: a histological analysis*. Ann Hepatol, 2009. **8**(4): p. 346-52.
38. Starley B.Q., Calcagno C.J., Harrison S.A., *Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection*. Hepatology, 2010. **51**(5): p. 1820-32.
39. Mehta K. et al., *Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and the role of antioxidants*. Nutr Rev, 2002. **60**(9): p. 289-93.
40. Buzzetti E., Pinzani M., Tsochatzis E.A., *The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)*. Metabolism, 2016. **65**(8): p. 1038-48.
41. Tilg H., Diehl A.M., *Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis*. N Engl J Med, 2000. **343**(20): p. 1467-76.
42. Han M.S. et al., *Lysophosphatidylcholine as a death effector in the lipoapoptosis of hepatocytes*. J Lipid Res, 2008. **49**(1): p. 84-97.
43. Teodoro J.S., Rolo A.P., Palmeira C.M., *Hepatic FXR: key regulator of whole-body energy metabolism*. Trends Endocrinol Metab, 2011. **22**(11): p. 458-66.
44. Yang Z.X., Shen W., Sun H., *Effects of nuclear receptor FXR on the regulation of liver lipid metabolism in patients with non-alcoholic fatty liver disease*. Hepatol Int, 2010. **4**(4): p. 741-8.

45. Schattenberg J.M. et al., *JNK1 but not JNK2 promotes the development of steatohepatitis in mice*. Hepatology, 2006. **43**(1): p. 163-72.
46. Petersen K.F. et al., *Apolipoprotein C3 gene variants in nonalcoholic fatty liver disease*. N Engl J Med, 2010. **362**(12): p. 1082-9.
47. Bambha K. et al., *Ethnicity and nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2012. **55**(3): p. 769-80.
48. Neuschwander-Tetri B.A. et al., *Clinical, laboratory and histological associations in adults with nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. **52**(3): p. 913-24.
49. Bravo A.A., Sheth S.G., Chopra S., *Liver biopsy*. N Engl J Med, 2001. **344**(7): p. 495-500.
50. Juluri R. et al., *Generalizability of the nonalcoholic steatohepatitis Clinical Research Network histologic scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. J Clin Gastroenterol, 2011. **45**(1): p. 55-8.
51. Brunt E.M. et al., *Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions*. Am J Gastroenterol, 1999. **94**(9): p. 2467-74.
52. Brunt E.M. et al., *Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings*. Hepatology, 2011. **53**(3): p. 810-20.
53. Bedossa P., Consortium F.P., *Utility and appropriateness of the fatty liver inhibition of progression (FLIP) algorithm and steatosis, activity, and fibrosis (SAF) score in the evaluation of biopsies of nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2014. **60**(2): p. 565-75.
54. Lonardo A. et al., *Nonalcoholic fatty liver disease: Evolving paradigms*. World J Gastroenterol, 2017. **23**(36): p. 6571-6592.
55. Sanyal A.J. et al., *Endpoints and clinical trial design for nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2011. **54**(1): p. 344-53.
56. Alkhouri N., Feldstein A.E., *Noninvasive diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease: Are we there yet?* Metabolism, 2016. **65**(8): p. 1087-95.
57. Angulo P. et al., *Liver Fibrosis, but No Other Histologic Features, Is Associated With Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Gastroenterology, 2015. **149**(2): p. 389-97 e10.
58. Ekstedt M. et al., *Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up*. Hepatology, 2015. **61**(5): p. 1547-54.

59. De Ritis F., Coltorti M., Giusti G., *An enzymic test for the diagnosis of viral hepatitis; the transaminase serum activities.* Clin Chim Acta, 1957. **2**(1): p. 70-4.
60. McPherson S. et al., *Simple non-invasive fibrosis scoring systems can reliably exclude advanced fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease.* Gut, 2010. **59**(9): p. 1265-9.
61. Treeprasertsuk S. et al., *NAFLD fibrosis score: a prognostic predictor for mortality and liver complications among NAFLD patients.* World J Gastroenterol. **19**(8): p. 1219-29.
62. Castera L., *Noninvasive Evaluation of Nonalcoholic Fatty Liver Disease.* Semin Liver Dis, 2015. **35**(3): p. 291-303.
63. Harrison S.A. et al., *Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease.* Gut, 2008. **57**(10): p. 1441-7.
64. Poynard T. et al., *Diagnostic value of biochemical markers (NashTest) for the prediction of non alcoholic steato hepatitis in patients with non-alcoholic fatty liver disease.* BMC Gastroenterol, 2006. **6**: p. 34.
65. Ratziu V. et al., *Diagnostic value of biochemical markers (FibroTest-FibroSURE) for the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease.* BMC Gastroenterol, 2006. **6**: p. 6.
66. Vallet-Pichard A. et al., *FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and fibrotest.* Hepatology, 2007. **46**(1): p. 32-6.
67. Shah A.G., *Use of the FIB4 Index for non-invasive evaluation of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease.* Clin Gastroenterol Hepatol, 2009: p. 1104-1112.
68. Wai C.T. et al., *A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C.* Hepatology, 2003. **38**(2): p. 518-26.
69. Kruger F.C. et al., *APRI: a simple bedside marker for advanced fibrosis that can avoid liver biopsy in patients with NAFLD/NASH.* S Afr Med J, 2011. **101**(7): p. 477-80.
70. Ratziu V. et al., *Liver fibrosis in overweight patients.* Gastroenterology, 2000. **118**(6): p. 1117-23.
71. Bedogni G. et al., *A simple index of lipid overaccumulation is a good marker of liver steatosis.* BMC Gastroenterol, 2010. **10**: p. 98.

72. Kotronen A. et al., *Prediction of non-alcoholic fatty liver disease and liver fat using metabolic and genetic factors*. Gastroenterology, 2009. **137**(3): p. 865-72.
73. Cales P. et al., *Comparison of blood tests for liver fibrosis specific or not to NAFLD*. J Hepatol, 2009. **50**(1): p. 165-73.
74. Dixon J.B., Bhathal P.S., O'Brien P.E., *Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese*. Gastroenterology, 2001. **121**(1): p. 91-100.
75. Sumida Y. et al., *A simple clinical scoring system using ferritin, fasting insulin, and type IV collagen 7S for predicting steatohepatitis in nonalcoholic fatty liver disease*. J Gastroenterol, 2011. **46**(2): p. 257-68.
76. Younossi Z.M. et al., *A biomarker panel for non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and NASH-related fibrosis*. Obes Surg, 2011. **21**(4): p. 431-9.
77. Guha I.N. et al., *Noninvasive markers of fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: Validating the European Liver Fibrosis Panel and exploring simple markers*. Hepatology, 2008. **47**(2): p. 455-60.
78. Kowdley K.V. et al., *Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2012. **55**(1): p. 77-85.
79. Feldstein A.E. et al., *Cytokeratin-18 fragment levels as noninvasive biomarkers for nonalcoholic steatohepatitis: a multicenter validation study*. Hepatology, 2009. **50**(4): p. 1072-8.
80. Chalasani N. et al., *Relationship of steatosis grade and zonal location to histological features of steatohepatitis in adult patients with non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2008. **48**(5): p. 829-34.
81. Wilder J., Patel K., *The clinical utility of FibroScan((R)) as a noninvasive diagnostic test for liver disease*. Med Devices (Auckl), 2014. **7**: p. 107-14.
82. Ekstedt M. et al., *Low clinical relevance of the nonalcoholic fatty liver disease activity score (NAS) in predicting fibrosis progression*. Scand J Gastroenterol, 2012. **47**(1): p. 108-15.
83. Soderberg C. et al., *Decreased survival of subjects with elevated liver function tests during a 28-year follow-up*. Hepatology, 2010. **51**(2): p. 595-602.
84. Angulo P., *Long-term mortality in nonalcoholic fatty liver disease: is liver histology of any prognostic significance?* Hepatology, 2010. **51**(2): p. 373-5.
85. Brunt E.M. et al., *Portal chronic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a histologic marker of advanced NAFLD-Clinicopathologic correlations from the nonalcoholic steatohepatitis clinical research network*. Hepatology, 2009. **49**(3): p. 809-20.

86. Alisi A. et al., *Relationship between portal chronic inflammation and disease severity in paediatric non-alcoholic fatty liver disease*. Dig Liver Dis, 2011. **43**(2): p. 143-6.
87. Gill R.M. et al., *Centrizonal arteries and microvessels in nonalcoholic steatohepatitis*. Am J Surg Pathol, 2011. **35**(9): p. 1400-4.
88. Angulo P., *Diagnosing steatohepatitis and predicting liver-related mortality in patients with NAFLD: two distinct concepts*. Hepatology, 2011. **53**(6): p. 1792-4.
89. Speliotes E.K. et al., *PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease*. Hepatology, 2010. **52**(3): p. 904-12.
90. Rotman Y. et al., *The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. **52**(3): p. 894-903.
91. Hannah W.N. Jr., Harrison S.A., *Effect of Weight Loss, Diet, Exercise, and Bariatric Surgery on Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. Clin Liver Dis, 2016. **20**(2): p. 339-50.
92. Katsagoni C.N. et al., *Effects of lifestyle interventions on clinical characteristics of patients with non-alcoholic fatty liver disease: A meta-analysis*. Metabolism, 2017. **68**: p. 119-132.
93. Musso G. et al., *Thiazolidinediones and Advanced Liver Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis: A Meta-analysis*. JAMA Intern Med, 2017. **177**(5): p. 633-640.
94. McCullough A.J., *Thiazolidinediones for nonalcoholic steatohepatitis--promising but not ready for prime time*. N Engl J Med, 2006. **355**(22): p. 2361-3.
95. Niswender K. et al., *Weight change with liraglutide and comparator therapies: an analysis of seven phase 3 trials from the liraglutide diabetes development programme*. Diabetes Obes Metab, 2013. **15**(1): p. 42-54.
96. Armstrong M.J. et al., *Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study*. Lancet, 2016. **387**(10019): p. 679-90.
97. Makri E., Cholongitas E., Tziomalos K., *Emerging role of obeticholic acid in the management of nonalcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2016. **22**(41): p. 9039-9043.
98. Adams T.D. et al., *Weight and Metabolic Outcomes 12 Years after Gastric Bypass*. N Engl J Med, 2017. **377**(12): p. 1143-1155.

99. Schauer P.R. et al., *Bariatric Surgery versus Intensive Medical Therapy for Diabetes - 5-Year Outcomes*. N Engl J Med, 2017. **376**(7): p. 641-651.
100. Luo R.B. et al., *How bariatric surgery affects liver volume and fat density in NAFLD patients*. Surg Endosc, 2017. **32**(4): p. 1675-1682.
101. Nickel F. et al., *Bariatric Surgery as an Efficient Treatment for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in a Prospective Study with 1-Year Follow-up : BariScan Study*. Obes Surg, 2017. **28**(5): p. 1342-1350.
102. American Diabetes Association, *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2010. **33 Suppl 1**: p. S62-9.
103. Brunt E.M., Tiniakos D.G., *Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2010. **16**(42): p. 5286-96.
104. Angulo P. et al., *The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD*. Hepatology, 2007. **45**(4): p. 846-54.
105. Brunt E.M. et al., *Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score and the histopathologic diagnosis in NAFLD: distinct clinicopathologic meanings*. Hepatology. **53**(3): p. 810-20.
106. Shah A.G. et al., *Comparison of noninvasive markers of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2009. **7**(10): p. 1104-12.
107. McPherson S. et al., *Age as a Confounding Factor for the Accurate Non-Invasive Diagnosis of Advanced NAFLD Fibrosis*. Am J Gastroenterol, 2017. **112**(5): p. 740-751.
108. Drolz A. et al, *Performance and reliability of non-invasive fibrosis scores in nonalcoholic fatty liver disease with and without morbid obesity*. EASL meeting 2018. J Hepatol, 2018: p. S 573-574.
109. Hagstrom H. et al., *A newscore to predict presence of advanced fibrosis in NAFLD and comparison with established scoring systems*. EASL meeting 2018. J Hepatol, 2018: p. S 558-559.
110. Patel Y.A. et al., *Risk factors for biopsy-proven advanced non-alcoholic fatty liver disease in the Veterans Health Administration*. Aliment Pharmacol Ther, 2017. **47**(2): p. 268-278.
111. Enomoto H. et al., *Liver fibrosis markers of nonalcoholic steatohepatitis*. World J Gastroenterol, 2015. **21**(24): p. 7427-35.
112. Marjot T. et al., *Prevalence and severity of non-alcoholic fatty liver disease are underestimated in clinical practice: impact of a dedicated screening approach at a large university teaching hospital*. Diabet Med, 2018. **35**(1): p. 89-98.

113. Sanal M.G., *Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease-the emperor has no clothes?* World J Gastroenterol, 2015. **21**(11): p. 3223-31.

Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gehört meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Claus Niederau für seine unendliche Geduld und seiner Sekretärin, Frau Birgit Baars für ihre Hilfsbereitschaft. Ich möchte mich auch bei Herrn Prof. Dr. Claus Dieter Gerharz und Herrn Dr. Andreas Thiel für die sehr gute Zusammenarbeit bedanken. Letztendlich will ich meine tiefste Dankbarkeit meiner Frau Catinca aussprechen. Sie hat mich ständig auf diesem Weg ermutigt.