

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

**Veränderung der mitochondrialen Funktion im Fettgewebe
nach Gewichtsabnahme abhängig vom NAFLD Status**

Dissertation

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

vorgelegt von Simon Esber 2024

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter/in: Prof. Dr. med. Michael Roden

Zweitgutachter/in: Prof. Dr. med. Thomas Hohlfeld

ZUSAMMENFASSUNG

Hochkalorische Ernährung begünstigt das Auftreten von Adipositas und der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD). Beide Erkrankungen sind eng miteinander verbunden und ihre Prävalenz steigt in den letzten Jahren kontinuierlich an. Zu der NAFLD zählen unterschiedliche Krankheitsbilder, wie die einfache Steatose, die entzündliche nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH) sowie Leberzirrhose und das hepatozelluläre Karzinom. Insbesondere bei Adipositas Grad 3 kann die bariatrische Chirurgie als effektive Behandlungsmethode eingesetzt werden. Bislang ist nicht vollständig verstanden, wie sich die chirurgisch-induzierte Gewichtsreduktion auf den Energiestoffwechsel einzelner Gewebe auswirkt. Eine frühere Studie zeigte, dass die mitochondriale Atmung des subkutanen Fettgewebes bei Personen mit Adipositas im Vergleich zu normalgewichtigen Menschen reduziert ist wohingegen das Vorhandensein einer NAFLD bei Adipositas Grad 3 keine Auswirkungen auf die mitochondriale Atmung des subkutanen Fettgewebes hatte. Ob die NAFLD jedoch einen Einfluss auf die Veränderungen der mitochondrialen Funktion nach der bariatrischen Operation hat, wurde bislang nicht untersucht, obwohl beide Organe, insbesondere im Hinblick auf den Lipidstoffwechsel, eng miteinander interagieren.

Daher ergab sich für diese Arbeit die primäre Fragestellung, ob das Vorhandensein einer NAFLD vor der bariatrischen Operation kurz- und langfristige Auswirkungen auf die mitochondriale Atmung des subkutanen Fettgewebes nach der Operation hat.

Es wurde bei 34 adipösen Personen mit einer Steatose (NAFL, n=12), einer NASH (n=10) und ohne NAFLD (n=12) vor sowie 12 und 52 Wochen nach einer bariatrischen Operation die mitochondriale Atmung im subkutanen Fettgewebe mittels hochauflösender Respirometrie gemessen. Zu diesen Zeitpunkten erfolgte auch eine Untersuchung der Insulinsensitivität mittels Glukose-Clamp-Tests.

Vor der Operation war die maximale gekoppelte Respiration des subkutanen Fettgewebes zwischen den Gruppen vergleichbar. Nach 52 Wochen hatte die mitochondriale Atmung in allen drei Gruppen zugenommen, wobei der Anstieg bei Personen mit NASH im Vergleich zu jenen mit NAFL oder ohne NAFLD geringer war. Auch die Ganzkörper-Insulinsensitivität (M-Wert) war nach 52 Wochen in allen drei Gruppen höher, wobei die Zunahme bei Personen mit NASH nach 12 und 52 Wochen niedriger war als in den beiden anderen Gruppen. Der Anstieg der mitochondrialen Kapazität war eng positiv mit dem prozentualen Gewichtsverlust sowie mit dem M-Wert assoziiert.

Somit führt die bariatrische Operation, unabhängig vom Vorliegen einer NAFLD, zu einer Verbesserung der mitochondrialen Atmung des subkutanen Fettgewebes. Der prozentuale Gewichtsverlust und die Verbesserung der Insulinsensitivität scheinen dabei eine maßgebliche Rolle zu spielen. Bei Vorliegen einer NASH ist die Verbesserung des Energiestoffwechsels des subkutanen Fettgewebes allerdings geringer. Diese Arbeit zeigt, dass das präoperative Vorhandensein einer NAFLD einen Einfluss auf die postoperativen Veränderungen des gewebespezifischen Energiestoffwechsels hat und daher im perioperativen Management der Betroffenen berücksichtigt werden sollte.

SUMMARY

High-calorie food and beverage consumption contributes to the development of both obesity and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). These two conditions are closely connected. Both have showed rising prevalences in the recent years. NAFLD comprises a broad spectrum of diseases ranging from non-alcoholic fatty liver (NAFL) to inflammatory non-alcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis, and hepatocellular carcinoma.

Bariatric surgery is an effective weight loss treatment for individuals with grade 3 obesity. However, the impact of weight reduction on tissue-specific energy metabolism is not yet fully understood. A previous study showed that the mitochondrial respiration of subcutaneous adipose tissue is reduced in individuals with obesity compared to people of normal weight whereas the presence of NAFLD did not affect the mitochondrial respiration of subcutaneous adipose tissue in grade 3 obesity. However, whether NAFLD influences changes in mitochondrial function following bariatric surgery has not yet been investigated, although both organs interact closely, especially in regards to lipid metabolism.

The primary objective of this study was to investigate whether the presence of NAFLD present before bariatric surgery affects mitochondrial capacity in subcutaneous adipose tissue after surgery in both the short- and long-term.

In total, mitochondrial respiration in subcutaneous adipose tissue, measured by high resolution respirometry, was assessed in 34 obese individuals with steatosis (NAFL, n=12), NASH (n=10), and without NAFLD (n=12) before the bariatric operation, as well as 12 and 52 weeks post-operation. Insulin sensitivity was additionally assessed at these time points using the glucose clamp method.

Before surgery, the maximum coupled respiration of the subcutaneous adipose tissue was comparable between the groups. After 52 weeks, the mitochondrial capacity had increased in all three groups, with the increase being smaller in individuals with NASH compared to those with NAFL or without NAFLD. Additionally, whole-body insulin sensitivity (M-value) was higher in all three groups after 52 weeks, but the increase in the NASH group was lower at both 12 and 52 weeks compared to the other two groups.

The increase in mitochondrial respiration was closely positively associated with the percentage of weight loss as well as with the M-value.

Thus, bariatric surgery leads to an improvement in the mitochondrial respiration of subcutaneous adipose tissue, regardless of the presence of NAFLD. The percentage of weight loss and the improvement in insulin sensitivity appear to play a significant role in this. However, in cases of NASH, the enhancement of the energy metabolism in subcutaneous adipose tissue is less pronounced. This study thus demonstrates that the preoperative presence of NAFLD contributes to the postoperative changes in tissue-specific energy metabolism and should therefore be considered in the perioperative management of affected individuals.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BG	Blutglukose
BMI.....	Body-Mass-Index
ChREBP.....	Carbohydrate-Response-Element-Binding-Protein
CRP	C-reaktives Protein
CSA.....	Citrate-Synthase-Activity
DDZ.....	Deutsches Diabetes-Zentrum
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DTNB	5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoesäure
<i>EKG</i>	Elektrokardiogramm
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
ETS	Elektronentransfer-Zustand
FADH2	Flavin-Adenin-Dinukleotid
FBG.....	Nüchternglukose (Fasting-Blood-Glucose)
FCCP	Carbonylcyanid-p-trifluormethoxyphenylhydrazon
FFA	Free Fatty Acids
FIB-4	Fibrosis-4
FLI.....	Fatty-Liver-Index
GLP1.....	Glucagon-like Peptid 1
Hb	Hämoglobin
HCC	Hepatocellular Carcinoma
HEC	Hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp
hsCRP.....	High Sensitive C-reactive Protein
IDF	International Diabetes Federation
IL-6.....	Interleukin 6
KÖF.....	Körperoberfläche
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LXR	Liver X-activated Receptor
M-Wert	Ganzkörper-Insulinsensitivität
MRT	Magnetresonanztomographie

mtDNA	mitochondriale DNA
NaCl	Natriumchlorid
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NAFL	nicht alkoholische Fettleber
NAFLD	nicht alkoholische Fettlebererkrankung
NAS	NAFLD-Activity-Score
NASH	nicht alkoholische Steatohepatitis
NFS	NAFLD-Fibrosis-Score
OSAS	obstruktives Schlafapnoesyndrom
<i>OXP</i> HOS	oxidative Phosphorylierung
PCR	Polymerasekettenreaktion (Polymerase-Chain-Reaction)
POS	polarographischer Sensor
qPCR	quantitative Polymerasekettenreaktion
ROS	Reactive Oxygen-Species
SAF	Steatosis-Activity-Fibrosis
SC	Space-Correction
SGLT2	Sodium-Glucose-Transporter 2
SREBP-1	Sterol Regulatory Element-binding
SUIT	Substrate-Uncoupler-Inhibitor-Titration
T2D	Typ-2-Diabetes
TBARS	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
TG	Triglyceride
TNB	5-thio-2-Nitrobenzoesäure
TNF α	Tumornekrosefaktor-alpha
UC	Urinary-Glucose-Loss-Correction
V1-5	Visit
VLDL	Very-low-Density-Lipoprotein
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1	<i>Einleitung</i>	1
1.1	Adipositas	1
1.1.1	Definition	2
1.1.2	Epidemiologie	2
1.1.3	Pathogenese	2
1.2	Therapie der Adipositas	5
1.2.1	Gewichtsreduktion durch Medikamente	6
1.2.2	Gewichtsreduktion durch bariatrische Chirurgie	6
1.2.3	Arten von bariatrischen Operationen	7
1.3	Nicht alkoholische Fettlebererkrankung	8
1.3.1	Definition	8
1.3.2	Epidemiologie	9
1.3.3	Diagnose	9
1.3.4	Pathogenese	12
1.4	Ziele dieser Arbeit	13
2	<i>Materialien, Methoden und Studienkollektiv</i>	15
2.1	Untersuchungsmethoden	15
2.1.1	Anthropometrie	15
2.1.2	Ruhe-Elektrokardiogramm	15
2.1.3	Blutdruckmessung	15
2.1.4	Fettgewebsbiopsien	15
2.1.5	Bariatrische Chirurgie	15
2.1.6	Hyperinsulinämischer euglykämischer <i>Clamp</i> (HEC)	16
2.2	Labormethoden	18
2.2.1	Blutanalysen	18
2.2.2	Bestimmung der Aktivität der Citratsynthese im subkutanen Fettgewebe	18
2.2.3	Bestimmung der mitochondrialen DNA	19
2.2.4	Messung der mitochondrialen Kapazität	19
2.3	Studienkollektiv	21
2.3.1	Ablauf der Studie	21
2.3.2	Rekrutierung der Studienteilnehmer	21
2.3.3	Voruntersuchung (<i>Screening</i>)	22
2.3.4	Ein- und Ausschlusskriterien	23
2.3.5	Ablauf der Untersuchungen	24
2.3.6	Abbruchkriterien	25
2.3.7	Probandenentgelt	25
2.4	Fallzahlkalkulation und statistische Analyse	26
		V

3	<i>Ergebnisse</i>	28
3.1	Charakteristika der teilnehmenden Personen vor der bariatrischen Operation, unterteilt nach NAFLD-Status	28
3.2	Metabolische Parameter im Zeitverlauf nach der bariatrischen Operation	29
3.2.1	Body-Mass-Index im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	29
3.2.2	Gewichtsreduktion im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	30
3.2.3	HbA1c im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	30
3.2.4	Nüchtern-Blutglukose im Verlauf über 52 Wochen nach der Operation	31
3.2.5	Insulin-Konzentrationen im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	32
3.2.6	Verlauf der freien Fettsäuren über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	33
3.2.7	Veränderung der Ganzkörper-Insulinsensitivität (M-Wert) im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	34
3.2.8	Veränderung der Blut-Konzentration der Triglyceride und des Gesamt-Cholesterins im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	35
3.2.9	Entzündungsparameter (hsCRP-Wert) im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	36
3.3	Veränderungen der Mitochondrienfunktion	37
3.3.1	Maximale gekoppelte mitochondriale Atmung ($[ETF+CI+II]_P$) im subkutanen Fettgewebe im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	37
3.3.2	Maximale entkoppelte mitochondriale Atmung ($[ETF+CI+II]_E$) im subkutanen Fettgewebe im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	38
3.3.3	Surrogatparameter der Mitochondriendichte im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	39
3.3.4	Inflamationsmarker im subkutanen Fettgewebe vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation	40
3.4	Assoziation von maximaler mitochondrialer Atmung mit metabolischen Parametern	42
3.4.1	Assoziation der maximal gekoppelten ($[ETF+CI+II]_P$) und der maximal entkoppelten ($[ETF+CI+II]_E$) mitochondrialen Atmung mit metabolischen Parametern	42
4	<i>Diskussion</i>	44
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	44
4.2	Bariatrische Chirurgie zur Therapie der Adipositas	44
4.2.1	Einfluss der Adipositaschirurgie auf den Body-Mass-Index	44
4.2.2	Einfluss der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung auf den Body-Mass-Index nach Adipositaschirurgie	45
4.2.3	Einfluss der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung auf die glykämische Kontrolle nach Adipositaschirurgie	46
4.2.4	Einfluss der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung auf die Insulinsensitivität	47
		VI

4.3	Auswirkungen der Adipositaschirurgie auf das Fettgewebe in Abhängigkeit vom Status der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung	48
4.3.1	Einfluss des Körpergewichts und des Glukosetoleranzstatus auf die mitochondriale Respiration und die mitochondriale Dichte des subkutanen Fettgewebes vor und nach Adipositaschirurgie	48
4.3.2	Mitochondriale Atmung des subkutanen Fettgewebes vor und nach Adipositaschirurgie in Abhängigkeit vom Status der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung	51
4.3.3	Inflammation des Fettgewebes und Zusammenhang mit der systemischen subklinischen Inflammation vor und nach Adipositaschirurgie in Abhängigkeit vom Status der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung	53
4.4	Schlussfolgerung	54
5	<i>Limitationen dieser Arbeit</i>	55
6	<i>Literaturverzeichnis</i>	56

1 Einleitung

Adipositas ist eng assoziiert mit der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD)[1]. Es ist bekannt, dass die mitochondriale Funktion des subkutanen Fettgewebes bei Adipositas reduziert ist[2] und durch Gewichtsreduktion durch eine bariatrische Operation wieder gesteigert werden kann[3]. Das Vorliegen einer NAFLD scheint keinen Einfluss auf die mitochondriale Funktion des subkutanen Fettgewebes bei Personen mit Adipositas Grad 3 zu haben[2]. Bisher ist nicht bekannt, ob dies auch kurz- sowie langfristig nach der chirurgisch-induzierten Gewichtsabnahme der Fall ist. In dieser Arbeit sollen daher die Auswirkungen des Vorhandenseins einer NAFLD auf die mitochondriale Funktion des subkutanen Fettgewebes bei adipösen Personen nach einer Gewichtsabnahme durch bariatrische Chirurgie untersucht werden.

1.1 Adipositas

Adipositas ist ein Hauptfaktor für die Entstehung eines metabolischen Syndroms[4]. Das metabolische Syndrom umfasst Risikofaktoren für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen sowie von Typ-2-Diabetes [4] und wird von der *Internationalen Diabetes Federation* (IDF) als stammbetonte Adipositas mit einem Taillenumfang von ≥ 80 cm bei Frauen bzw. ≥ 94 cm bei Männern plus 2 der folgenden Kriterien definiert:

- Erhöhter systolischer Blutdruck von ≥ 130 mmHg oder erhöhter diastolischer Blutdruck von ≥ 85 mmHg oder Antihypertensiva
- Nüchternblutglukose ≥ 100 mg/dl oder Typ-2-Diabetes oder Antidiabetika
- erhöhte Triglyzeride von ≥ 159 mg/dl oder Lipidsenker
- erniedrigtes HDL-Cholesterin von < 50 mg/dl bei Frauen oder von < 40 mg/dl bei Männern oder Medikament [5]

Das relative Risiko adipöser Personen, eine Insulinresistenz, Typ-2-Diabetes oder eine Fettlebererkrankung zu entwickeln, ist im Vergleich zu nicht adipösen Personen um mehr als das Dreifache erhöht [4]. Auch das Risiko für kardiovaskuläre und orthopädische Erkrankungen (z.B. Arthrose), Karzinome

sowie für pulmonale Erkrankungen wie restriktive Ventilationsstörungen und Schlafapnoe ist bei adipösen Menschen im Vergleich zu nicht adipösen gesteigert [4].

1.1.1 Definition

Laut Weltgesundheitsorganisation (*World Health Organization*, WHO) wird bei Erwachsenen ab einem Body-Mass-Index (BMI) von 25 kg/m^2 oder höher von Übergewicht gesprochen [6]. Die WHO beschreibt einen BMI von $\geq 30 < 35 \text{ kg/m}^2$ als Adipositas Grad 1, einen von $\geq 35 < 40 \text{ kg/m}^2$ als Adipositas Grad 2 und einen BMI von $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ als Adipositas Grad 3 [7].

1.1.2 Epidemiologie

Die Prävalenz von Übergewicht und Adipositas hat in den vergangenen Jahren weltweit stetig zugenommen: Von 1975 bis 2016 kam es global zu einer Verdreifachung der Anzahl an adipösen Personen[8].

Die Zahl der übergewichtigen Erwachsenen lag im Jahr 2016 bei 1,9 Milliarden, von diesen wiederum 650 Millionen adipös waren [8].

Das Statistische Bundesamt gab für Deutschland 2017 die Prävalenz von Übergewicht in der erwachsenen Bevölkerung bei Männern mit ca. 62 % an, 18 % davon waren adipös [9]. Bei Frauen lag der Anteil der Übergewichtigen bei ca. 43 %, davon waren etwa 15 % adipös [9].

1.1.3 Pathogenese

Ein zentraler Faktor in der Pathogenese der Adipositas ist eine übermäßige Energieaufnahme, die nicht durch einen erhöhten Energieverbrauch kompensiert wird [4]. Ursächlich für dieses Ungleichgewicht im Energiehaushalt ist insbesondere eine Ernährung mit hochkalorischen fett- und kohlenhydratreichen Lebensmitteln sowie mit Getränken, die einen hohen Anteil an Fruktose und Glukose (insbesondere Glukose-Fruktose-Sirup in Softdrinks) aufweisen [10, 11]. Neben der Ernährung spielen vor allem eine zu geringe körperliche Aktivität

[11] sowie genetische Gründe eine Rolle für das individuelle Risiko und die Ausprägung von Übergewicht und Adipositas [11].

Durch die persistierende positive Energiebilanz kommt es zur einer stetigen Zunahme der subkutanen und viszeralen Fettmasse, aber auch zur Fettspeicherung in anderen Organen, insbesondere in der Leber [11]. Die übermäßige Aufnahme von Kohlenhydraten führt dazu, dass diese nicht mehr vollständig als Glykogen gespeichert werden können und vermehrt der hepatischen de-novo-Lipogenese zugeführt werden, in welcher Fettsäuren gebildet werden [12]. Die überschüssigen freien Fettsäuren (FFA) in der Blutbahn werden zunächst vor allem im subkutanen Fettgewebe gespeichert. Dies erfolgt mittels Hyperplasie (Vermehrung) oder Hypertrophie (Vergrößerung) der Adipozyten. Während die Hyperplasie metabolisch nur wenige Veränderungen hervorruft, ist die Hypertrophie mit einer vermehrten Inflammation und Insulinresistenz im Fettgewebe assoziiert. Die dahinterstehenden Mechanismen sind noch nicht vollständig geklärt [13]. Es wird vermutet, dass hier mechanischer Stress, aber auch eine Hypoxie in den Adipozyten durch die Vergrößerung der Zellen hervorgerufen wird [13]. Der vermehrte Zellstress führt zu einer Einwanderung von Makrophagen ins Fettgewebe, die inflammatorische Vorgänge triggern und über die Sekretion proinflammatorischer Zytokine (insbesondere Tumornekrosefaktor-alpha (TNF- α) und Interleukin 6 (IL-6)) zur Entstehung der Insulinresistenz im subkutanen Fettgewebe beitragen [11, 13]. Insulin wirkt als Inhibitor der Lipolyse [14]. Bei der Insulinresistenz im Fettgewebe ist jedoch die hemmende Wirkung von Insulin auf die Lipolyse reduziert. Daher kommt es zu einer gesteigerten Lipolyse und zu einer erhöhten Ausschüttung von FFA aus den Adipozyten [15].

Neben der Speicherung im subkutanen Fettgewebe kommt es auch zur vermehrten Speicherung von Fettsäuren im viszeralen Fettgewebe und zur ektopen Fettspeicherung [15]. Das viszerale Fettgewebe sezerniert zahlreiche proinflammatorische Zytokine, wie das C-reaktive Protein (CRP), TNF- α und IL-6.

Die zirkulierenden FFA und proinflammatorischen Zytokine tragen zu einer Abnahme der Insulinsensitivität anderer Gewebe bei, insbesondere an der Leber und der Skelettmuskulatur [11]. Bisher ging man davon aus, dass in erster Linie

das viszerale Fettgewebe für die Abnahme der Insulinsensitivität ursächlich ist, obwohl es nur für 15 bis 20 % der Freisetzung von FFA verantwortlich ist. Studien[16] [17] konnten jedoch zeigen, dass der Großteil der aus dem Fettgewebe freigesetzten FFA aus dem subkutanen Fettgewebe stammt und Letzteres daher stark an den inflammatorischen Prozessen beteiligt ist, die zu einer Abnahme der Insulinsensitivität in der Leber und im Skelettmuskel führen [17].

Auch eine gestörte Funktion der Mitochondrien kann zur Dysfunktion des Fettgewebes bei Personen mit Adipositas beitragen [18]. In den Mitochondrien findet der Energiestoffwechsel der Zelle statt. Zum einen wird das in der Glykolyse gebildete Pyruvat dort durch die Pyruvatdehydrogenase zu Acetyl-CoA umgewandelt. Zum anderen werden FFA von den Mitochondrien aufgenommen und mittels der in den Mitochondrien ablaufenden β -Oxidation ebenfalls zu Acetyl-CoA abgebaut. Das Acetyl-CoA wird dann in den Citratzyklus eingebracht [19]. Die im Citratzyklus, der Glykolyse und der Pyruvatoxidation entstehenden Produkte NADH und $FADH_2$ werden als Reduktionsäquivalente bezeichnet. Sie übertragen die gebildete Energie in Form von Elektronen auf die Komplexe der Atmungskette. Die Elektronen werden innerhalb dieser Komplexe von höheren auf niedrigere Energieniveaus weitergegeben. Für den Transport der Elektronen zwischen den Komplexen sind zwei Substrate zuständig. Diese werden als Ubichinon und Cytochrom c bezeichnet [20].

Die Elektronen werden durch die Atmungskettenkomplexe schrittweise auf Sauerstoff übertragen und so zur ATP-Synthese genutzt. Die Übertragung auf den Sauerstoff wird vom Komplex IV, der Cytochrom-c-Oxidase, übernommen. Die durch den Elektronentransport entstehende Energie wird von den Komplexen I (NADH: Ubichinon-Oxidoreduktase), III (Ubihydrochinon : Cytochrom-c-Oxidoreduktase) und IV (Cytochrom c : O_2 -Oxidoreduktase) dazu genutzt, Protonen über die innere Mitochondrienmembran in den Intermembranraum zu pumpen. Der durch den Transport der Protonen aufgebaute Protonengradient wird vom Komplex V, der F_1/F_0 -ATP-Synthase, dazu verwendet, ATP zu synthetisieren. Hierbei strömen die Protonen aus dem Intermembranraum durch das Kanalprotein (Komplex V) zurück in den Matrixraum. Die F_1/F_0 -ATP-

Synthase nutzt dies, um aus ADP und Phosphat ATP und Wasser zu generieren. Den gesamten Prozess bezeichnet man als oxidative Phosphorylierung (OXPHOS) [20].

Im Fettgewebe erfüllen die Mitochondrien bedeutsame Funktionen. Durch die kontrollierte Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (*Reactive Oxygen-Species*, ROS) durch den Komplex III der Atmungskette wird die Differenzierung der Adipozyten angeregt [21]. Bei zu hoher Produktion führt die ROS-Produktion allerdings eher zu einer Hemmung der Adipozytendifferenzierung [21]. Zudem kann durch die Bereitstellung von ATP in den Mitochondrien die Fettspeicherung im subkutanen Fettgewebe stattfinden und somit einer Speicherung im ektopen Gewebe entgegen gewirkt werden [21]. Eine regelrechte Funktion der Mitochondrien im Fettgewebe ist außerdem essenziell für eine regelrechte Insulin-vermittelte Glukoseverwertung. In mehreren Studien konnte eine gestörte mitochondriale Respiration in den Adipozyten mit einer Abnahme der Insulinsensitivität in Verbindung gebracht werden [21]

Bei adipösen Personen ist die mitochondriale Respiration im Fettgewebe beeinträchtigt. Es kommt im subkutanen Fettgewebe zu einer Reduktion der Expression der Atmungskett Komplexe sowie zu einer Abnahme der mitochondrialen Masse [14, 18]. Außerdem führt die Adipositas zu einem Rückgang der maximalen Kapazität der oxidativen Phosphorylierung [22, 23].

Durch die gestörte mitochondriale Funktion bei adipösen Personen kommt es in der Folge auch zu einer Reduktion der Adiponektin-Plasmaspiegel [24]. Adiponektin führt in der Leber zu einer Hemmung der Glukoneogenese und der De-novo-Lipogenese. Zudem sorgt es für eine vermehrte Oxidation von FFA und trägt somit zu einer verminderten Lipidakkumulation in den Leberzellen bei. Ein niedriger Adiponektinspiegel kann daher die Entstehung einer nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (Non-Alcoholic Fatty-Liver-Disease, NAFLD) begünstigen und zu einer Progression selbiger führen [25, 26].

1.2 Therapie der Adipositas

Eine Gewichtabnahme kann auf verschiedenen Wegen erreicht werden – durch eine Lebensstilintervention, den Einsatz von Medikamenten oder durch die bariatrische Chirurgie [27].

1.2.1 Gewichtsreduktion durch Medikamente

Falls Lebensstilinterventionen nicht zu einer ausreichenden Gewichtsabnahme führen, kann eine Pharmakotherapie als zusätzliche Maßnahme in Betracht gezogen werden. In Deutschland wird von der Deutschen Gesellschaft für Adipositas mit Orlistat aktuell nur ein Medikament zur Gewichtsreduktion empfohlen [4]. Bei adipösen Personen mit Typ-2-Diabetes können auch GLP1-Agonisten oder SGLT2-Inhibitoren als Ergänzung zur Therapie mit Metformin eingesetzt werden, da diese zur einer Gewichtsreduktion führen können [4]. Die GLP1-Agonisten Liraglutid und Semaglutid sind von der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA) auch bei adipösen Personen ohne Typ-2-Diabetes zur Gewichtsreduktion zugelassen [28, 29]. Es konnte gezeigt werden, dass die tägliche Gabe von Liraglutid bei adipösen Personen zu einer Gewichtsabnahme von 6% des ursprünglichen Körpergewichtes nach 68 Wochen führen kann [30]. Für Semaglutid konnte nachgewiesen werden, dass es sowohl bei adipösen Personen mit Typ-2-Diabetes (STEP-2-Studie) als auch bei solchen ohne Diabetes (STEP-1-Studie) in einer deutlichen Gewichtsabnahme resultierte. In der STEP-1-Studie betrug die relative Gewichtsreduktion nach 68 Wochen 14,8 % (2,4 mg Semaglutid) und in der STEP-2-Studie 9,64 % (2,4 mg Semaglutid) [31, 32]

1.2.2 Gewichtsreduktion durch bariatrische Chirurgie

Nicht-invasive Maßnahmen können nicht allen Menschen helfen, einen ausreichenden Gewichtsverlust zu erreichen. Bei Personen mit Adipositas Grad 3 (bzw. Grad 2 bei Bestehen von mit Adipositas assoziierten Erkrankungen) wird die Gewichtsreduktion durch Adipositaschirurgie empfohlen [4]. Laut Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie ist die bariatrische Operation als Mittel zur Gewichtsreduktion sinnvoll, „[...] wenn nach mindestens 6 Monaten umfassender Lebensstilintervention in den letzten zwei Jahren eine Reduktion des Ausgangsgewichts von > 15 % bei einem BMI von 35–39,9 kg/m² und von > 20 % bei einem BMI > 40 kg/m² nicht erreicht wurde“ [33].

Auch in der Interdisziplinären Leitlinie zur Prävention und Therapie der Adipositas (Deutsche Adipositas Gesellschaft, Deutsche Diabetes Gesellschaft, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin) [4] wird zu einer bariatrischen Operation geraten, wenn eine extreme Adipositas vorliegt und eine konservative Therapie nicht zum Ziel führt [4]. Auch die amerikanischen Fachgesellschaften (The Obesity Society, American Association of Clinical Endocrinologists, American Society for Metabolic & Bariatric Surgery, American College of Endocrinology) empfehlen die bariatrische Chirurgie bei Personen mit einem BMI > 40 kg/m², bzw. bei Personen mit einem BMI von 35–39,9 kg/m² wenn mit Übergewicht assoziierte Erkrankungen (wie z.B. Fettstoffwechselstörungen, arterielle Hypertonie, NAFLD) vorliegen, sowie bei Personen mit Typ 2 Diabetes und einem BMI zwischen 30–34,9 kg/m² [34].

Mehrere Studien konnten den positiven Effekt der Adipositaschirurgie auf die langfristige Gewichtsreduktion und Remission des Typ-2-Diabetes sowie auf die arterielle Hypertonie und die Hyperlipidämie belegen[35]. Es konnte zudem gezeigt werden, dass eine Gewichtsreduktion durch eine bariatrische Operation mit einer häufigeren Remission von arterieller Hypertonie und Typ-2-Diabetes, verglichen mit einem durch Lebensstilmodifikation hervorgerufenen Gewichtsverlust, verbunden ist [36]. Die häufigsten akuten Komplikationen der bariatrischen Chirurgie sind Fisteln der Klammernaht, Anastomoseninsuffizienz, Abszesse und Blutungen [33].

1.2.3 Arten von bariatrischen Operationen

Es stehen unterschiedliche Verfahren der bariatrischen Chirurgie zur Verfügung. In erster Linie sollten der Schlauchmagen, der Magenbypass, die biliopankreatische Diversion oder die biliopankreatische Diversion mit Duodenal-Switch individuell für den Patienten gewählt werden [33].

Bei der Schlauchmagen-Operation wird der Magen schlauchförmig auf ein Volumen von 85 bis 100 ml verkleinert. Die Mortalität liegt bei unter 1 %, die Morbidität ist mit ca. 8 % geringer als beim Roux-en-Y-Magenbypass [33].

Bei Letzterem wird zunächst ein Vormagen (Magenpouch) gebildet, der vom Rest des Magens abgetrennt wird und nur ein geringes (15 bis 20 ml) Volumen aufnehmen kann. Der Restmagen verbleibt im Körper. Der Magenpouch wird mit einem hochgezogenen Jejunalschenkel verbunden. Das Duodenum wird weiter

distal in den Jejunalschenkel abgeleitet. Die Mortalität liegt bei unter 0,8 %, die perioperative Morbidität bei ca. 20 % [33].

Für den Omega-Loop-Magenbypass wird ein kleinkurverturseitiger, längs verlaufender Magenpouch gebildet, der an eine Jejunalschlinge angeschlossen wird. Der Restmagen verbleibt. Auch hier liegt die Mortalitätsrate bei unter 1 %, die Morbidität ist in etwa mit der beim Roux-en-Y-Magenbypass zu vergleichen[33].

Weitere, weniger häufig angewandte bariatrische Verfahren sind die biliopankreatische Diversion, die biliopankreatische Diversion mit Duodenal-Switch, die Gastroplicatur, der Magenschrittmacher, der proximale oder distale Pylorus-erhaltende Ein-Anastomosen-Bypass sowie das Magenband [33, 37].

1.3 Nicht alkoholische Fettlebererkrankung

Wie bereits oben beschrieben ist die Adipositas eng mit der NAFLD verbunden[1]. Die NAFLD ist aktuell die häufigste chronische Lebererkrankung weltweit [38] und hat mit ihren fortgeschritten Stadien wie der Leberzirrhose und dem hepatozellulären Karzinom einen maßgeblichen Anteil an der Zunahme an Lebertransplantationen und der Mortalität aufgrund von Lebererkrankungen[39].

1.3.1 Definition

Die NAFLD ist eine chronische Lebererkrankung zu der die einfache Steatose (non-alcoholic fatty liver, NAFL) , die entzündliche und profibrotische Steatohepatitis (non-alcoholic steatohepatitis, NASH), die Leberzirrhose und das hepatozelluläre Karzinom (hepatocellular carcinoma, HCC) zählen [40]. Andere Ursachen, die zu einer übermäßigen Fetteinlagerung in die Leber führen können, wie ein signifikanter Alkoholkonsum (> 30 g täglich bei Männern, > 20 g täglich bei Frauen), chronische Hepatitiden, lebertoxische Medikamente, Hämochromatose oder Morbus Wilson müssen vor Diagnosestellung ausgeschlossen werden [40].

Die Diagnose einer NAFLD kann gestellt werden, wenn histologisch mehr als 5 % der Hepatozyten Fetteinlagerungen zeigen. Eine NASH liegt vor, wenn zusätzlich entzündliche Zellinfiltrationen (lobuläre Inflammation) sowie Zellschädigungen (*Ballooning*) in der Leber nachgewiesen werden können. Begleitend kann sich

eine Fibrose der Leberzellen zeigen [41]. Die Fibrose kann in seltenen Fällen zur Leberzirrhose voranschreiten. Auf dem Boden der Zirrhose kann auch ein hepatozelluläres Karzinom (*hepatocellular carcinoma*), HCC entstehen. Es bestehen jedoch auch Hinweise darauf, dass nicht alle Stadien durchlaufen werden müssen. Beispielsweise können auch Patienten, die von einer NASH ohne fibrotische Veränderungen betroffen sind, ein HCC entwickeln [42].

Die Bezeichnung NAFLD wird zunehmend kritisiert, da „nicht alkoholisch“ nicht die tatsächliche Ursache der Erkrankung widerspiegelt und der Begriff „fatty“ von bestimmten Personengruppen als stigmatisierend wahrgenommen werden könnte [43]. Daher wird seit diesem Jahr zunehmend auch die Bezeichnung MASLD für die NAFLD und MASH für die NASH verwendet. MASLD steht für "metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease" und MASH für "metabolic dysfunction-associated steatohepatitis" [43]. Die Bezeichnungen wurden vorgeschlagen, um die metabolischen Ursachen der Fettlebererkrankung in ihrer Pathogenese hervorzuheben[43].

1.3.2 Epidemiologie

Die globale Prävalenz der NAFLD beträgt ca. 25 %, d. h., jeder vierte Erwachsene weltweit ist von einer NAFLD betroffen[38]. In den USA ist die NAFLD mittlerweile einer der häufigsten Gründe für eine Lebertransplantation. Auch in Europa erhöhte sich der Anteil der Lebertransplantationen aufgrund einer NAFLD von 1,6 % auf 8,4 % von 2002 bis 2016 [44].

1.3.3 Diagnose

Der Goldstandard zur Diagnose einer NAFLD ist die Leberbiopsie. Nur durch diese können die Entzündungsprozesse der Leber beurteilt und somit kann zwischen einer NAFL und einer NASH unterschieden werden. Zur Beurteilung der Leberveränderungen haben sich der NAFLD-Activity-Score (NAS) und der Steatosis-Activity-Fibrosis(SAF)-Score etabliert [45].

NAS			SAF		
Components	Score	Description	Components	Score	Description
Steatosis	0 1 2 3	< 5 % 5–33 % > 33–66 % > 66 %	Steatosis	S0 S1 S2 S3	None 5–33 % 34–66 % > 66 %
Ballooning	0 1 2	None Few balloon cells Many cells/Prominent ballooning	Activity: Ballooning Lobular Inflammation Activity grade	A0–A4 0 1 2 0 1 2 1 2 3–4	None Clusters of hepatocytes with rounded shape And pale and/or reticulated cytoplasm Same as score 1 with enlarged hepatocytes (> 2_ normal size) 0: none 1: < 2 foci per 20/ objective field 2: > 2 foci per 20/ objective field mild activity moderate activity severe activity
Inflammation	0 1 2 3	No foci < 2 foci/200x 2–4 foci/200x > 4 foci/200x	Fibrosis	F0 F1a F1b F1c F2 F3 F4	No significant fibrosis Mild zone 3 perisinusoidal fibrosis Moderate zone 3 perisinusoidal fibrosis Portal fibrosis only Zone 3 and periportal perisinusoidal fibrosis Bridging fibrosis Cirrhosis

NAS0-8

S0-4 A0-4 F0-4

Tabelle 1: Komponenten des NAFLD-Activity-Score (NAS) und des Steatosis-Activity-Fibrosis(SAF)-Score nach Papatheodoridi and Cholongitas [46]

Auch wenn die Risiken einer Leberbiopsie gering sind, spielen nicht invasive Verfahren vor allem für die Beurteilung der Krankheitsprogression eine immer größere Rolle [45, 47].

Im Rahmen eines Screenings sollten Personen mit einem metabolischen Syndrom, Typ 2 Diabetes, Übergewicht/Adipositas, Arterieller Hypertonie oder Personen mit persistierend erhöhten Leberwerten (GOT/GPT) eine abdominelle Ultraschalluntersuchung erhalten [48].

Diese kann allerdings kann diese erst ab einem Steatosegrad von ca. 20 % zuverlässig über das Vorhandensein einer Fettleber Auskunft geben und eine geringergradige Leberverfettung wird möglicherweise mit dieser Methode nicht detektiert[45].

Falls eine Ultraschalluntersuchung nicht möglich ist sollte, kann das Risiko für eine bestehende Steatose anhand nicht-invasiver Scores wie dem *Fatty-Liver-Index (FLI)* weiter abgeschätzt werden[48]. Dieser enthält neben dem BMI und dem Bauchumfang die Plasma-Triglyceride und die Gamma-GT im Serum [48]. Wird in der Ultraschalluntersuchung eine Steatose nachgewiesen, oder ist der FLI auffällig, sollten weitere Fettleber-Scores wie z. B. der *NAFLD-Fibrosis-Score (NFS)* oder der *Fibrosis-4(FIB-4)-Index*, genutzt werden[48]. Der NFS beinhaltet das Alter, die Größe, das Gewicht, die Transaminasen, die Thrombozyten, das Albumin und das Vorhandensein oder Fehlen von Typ-2-Diabetes. Der FIB-4-Score umfasst dagegen nur das Alter, die Transaminasen und die Thrombozytenzahl [49]. Falls im NFS- oder FIB-4- Score ein hohes Risiko berechnet wird oder die GOT/GPT auch nach einem Jahr noch erhöht sind, sollte eine weitere Diagnostik erfolgen[48]. Die betroffenen Personen sollten dann magnetresonanz- und ultraschallbasierte Verfahren zur Quantifizierung des Leberfettgehalts und des Fibrosegrads wie z.B. die Vibrationskontrollierte transiente Elastographie (VCTE) oder die MR-Elastographie erhalten[48]. Diese zeigten in klinischen Studien mit den Ergebnissen aus der Leberbiopsie gut korrelierende Resultate [50].

Aktuell kann allerdings bei keinem laborchemischen oder bildgebenden Verfahren mit ausreichender Sensitivität und Spezifität zwischen einer einfachen Steatose und einer NASH unterschieden werden[45]. Bestehen nach den durchgeführten Untersuchungen daher starke Hinweise auf das Vorliegen einer

Leberfibrose, sollte eine Leberbiopsie durchgeführt werden[48]. Es muss hier allerdings beachtet werden, dass der invasive Eingriff Risiken hat und in seltenen Fällen zu post-operativen Komplikationen führen kann. Zum anderen ist die kleine Gewebeprobe nicht immer repräsentativ für den gesamten Leberzustand, vor allem wenn eine ungleiche Verteilung der Steatose in der Leber vorliegt [51, 52]. Außerdem kann es durch unterschiedliche Befundung der einzelnen Pathologen zu abweichenden Ergebnissen in der histopathologischen Bewertung der Leberprobe kommen [52].

1.3.4 Pathogenese

Hochkalorische Ernährung und Getränke mit einem hohen Anteil an Fruktose und Glukose sind eng mit der Entstehung einer NAFLD verbunden [10, 53]. Zu den Risikofaktoren für die NAFLD gehören außerdem eine bestehende Insulinresistenz sowie Typ-2-Diabetes. Umgekehrt sind Personen mit NAFLD auch häufiger von Typ-2-Diabetes betroffen [54]. Etwa die Hälfte der Personen mit einer NAFLD weltweit ist adipös und ca. 23 % haben Typ-2-Diabetes. Menschen mit einer diagnostizierten NASH sind sogar in ca. 81 % der Fälle adipös und zu 44 % an Typ-2-Diabetes erkrankt [1]. Zudem konnte gezeigt werden, dass Typ-2-Diabetes das Risiko einer Progression der NAFL zur NASH und zu einer Leberzirrhose erhöht [1].

Eine entscheidende Rolle für die Entstehung der NAFLD haben erhöhte FFA-Konzentrationen in der Blutbahn. Der Großteil der FFA, die von der Leber aufgenommen werden, stammt aus dem Fettgewebe, wo diese durch Lipolyse mobilisiert werden. Dieser Anteil beträgt im Nüchternzustand 80 % und postprandial 60 % [26]. Weitere Quellen der von der Leber aufgenommenen FFA sind durch die Nahrung zugeführte Fette und die De-novo-Lipogenese [26] [55]. Die FFA werden insbesondere von der Leber aufgenommen sowie in Form von Triglyzeriden in den Hepatozyten gespeichert und akkumulieren dort. Zudem werden bei bereits bestehender hepatischer Insulinresistenz weniger Lipide aus der Leber abtransportiert, da ein Mangel an *Very-low-Density-Lipoprotein* (VLDL) vorliegt. Dies trägt ebenfalls zur Lipidanhäufung in der Leber und zur Entstehung einer NAFLD bei [26]. Auch konnte bei Personen mit einer NAFLD nachgewiesen werden, dass die De-novo-Lipogenese gesteigert ist[56]. Die hohen

Insulinspiegel sorgen über den *Liver X-activated Receptor* (LXR) und das *Sterol Regulatory Element-binding Protein 1* (SREBP-1) sowie erhöhte Blutglukosespiegel über das *Carbohydrate Response Element-binding Protein* (ChREBP) zu einer Aktivierung der De-novo-Lipogenese[56].

Auch die hepatischen Mitochondrien sind für die Entstehung der NAFLD von Bedeutung. Die bei Insulinresistenz vermehrt verfügbaren FFA werden verstärkt über die β -Oxidation zu Acetyl-CoA abgebaut und dem Citratzyklus zugeführt [57]. Die Akkumulation der Endprodukte des Citratzyklus führt zu einer übermäßigen Belastung der Atmungskette. Durch verstärkte Aktivität entstehen im Rahmen der Energiegewinnung vermehrt reaktive Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS. Diese können die Leberzellen direkt schädigen und führen zudem zu Entzündungsprozessen in der Leber [58]. Mit der Progression der Steatose zur NASH können die Mitochondrien die adaptive Steigerung der mitochondrialen Kapazität nicht mehr aufrechterhalten. Die weiterhin vermehrt anfallenden Elektronen können nicht mehr zwischen den Komplexen der Atmungskette weitergegeben werden. Es entstehen zunehmend ROS, die die Leberzellen und insbesondere die Mitochondrien weiter schädigen [59]. In Lebern von Personen mit NASH konnten Schäden an den Mitochondrien auch elektronenmikroskopisch sichtbar gemacht werden [60].

1.4 Ziele dieser Arbeit

Pafili et al. untersuchten subkutane Fettgewebsproben von Personen mit und ohne NAFLD, die während einer bariatrischen Operation entnommen wurden [61]. Sie konnten keine Unterschiede der mitochondrialen Respiration des subkutanen Fettgewebes zwischen Personen mit Adipositas Grad 3 mit und ohne NAFLD/NASH feststellen – trotz geringerer Gesamtkörper-Insulinsensitivität und Insulinsensitivität im Fettgewebe bei Personen mit einer NASH im Vergleich zu solchen ohne NAFLD [61].

Eine frühere Arbeit zeigte, dass sich die mitochondriale Respiration des subkutanen Fettgewebes durch die bariatrische Operation verändern kann,

jedoch nicht, ob hier auch das Vorhandensein und der Schweregrad einer NAFLD vor der Operation eine Rolle spielen [3].

Unsere primäre Hypothese ist, dass die Veränderung der maximalen mitochondrialen Atmung des subkutanen Fettgewebes nach einer bariatrischen Operation und Gewichtsabnahme bei Personen mit Adipositas Grad 3 abhängig ist vom Vorhandensein und Schweregrade der NAFLD.

Zudem testen wir die sekundäre Hypothese, dass eine präoperativ vorhandene NAFLD die postoperativen Veränderungen des Körpergewichts, der Glukosekontrolle und der Ganzkörper-Insulinsensitivität im untersuchten Kollektiv beeinflusst, und dies mit der mitochondrialen Kapazität des subkutanen Fettgewebes in Zusammenhang steht.

Diese Arbeit hat dementsprechend folgende Ziele:

- Untersuchung der maximalen mitochondrialen Atmung des subkutanen Fettgewebes bei Personen mit Adipositas Grad 3, abhängig vom Vorhandensein und Schweregrad der NAFLD vor sowie 3 und 12 Monate nach der bariatrischen Operation
- Untersuchung der kurz- und langfristigen Auswirkungen einer präoperativ vorhandenen NAFLD auf das postoperative Körpergewicht, Glukosekontrolle sowie die Ganzkörper-Insulinsensitivität und deren Zusammenhang mit der mitochondrialen Atmung des Fettgewebes
- Untersuchung einer möglichen Assoziation der maximalen mitochondrialen Atmung des subkutanen Fettgewebes mit dem Körpergewicht, der Glukosekontrolle sowie Ganzkörper-Insulinsensitivität 12 Monate nach der bariatrischen Operation

2 Materialien, Methoden und Studienkollektiv

2.1 Untersuchungsmethoden

2.1.1 Anthropometrie

Das Körpergewicht und die Körpergröße der Studienteilnehmer wurden in leichter Kleidung und ohne Schuhe bestimmt. Der BMI wurde dann anhand der folgenden Formel berechnet: Körpergewicht (in kg), geteilt durch Körpergröße (in m) zum Quadrat.

Der Taillenumfang der Teilnehmer wurde standardisiert in der Mitte zwischen der letzten Rippe und der höchsten Stelle des Darmbeinkamms nach Ertasten mit der Hand am Ende einer normalen Ausatmung auf 1 cm genau gemessen.

2.1.2 Ruhe-Elektrokardiogramm

Die Aufzeichnung des 12-Kanal-Elektrokardiogramms erfolgte nach mindestens 5 Minuten Ruhe in liegender Position mit leicht erhöhtem Oberkörper.

2.1.3 Blutdruckmessung

Der Blutdruck wurde im Sitzen gemessen. Der Unterarm des Probanden wurde leicht gebeugt und mit der Handfläche nach oben auf dem Tisch abgelegt. Der untere Rand der Manschette befand sich in Herzhöhe. Es wurde jeweils eine Messung am rechten und am linken Arm nach fünfminütiger Ruhephase nach der Riva-Rocci-Methode durchgeführt.

2.1.4 Fettgewebsbiopsien

Zur lokalen Betäubung wurde ein lokal wirksames Betäubungsmittel (Xylocain 2 %, 1:1 verdünnt mit 0,9 % NaCl) unter die Haut gespritzt. Danach wurde mithilfe eines Skalpells ein kleiner Schnitt (5 mm) gemacht, durch den subkutanes Fettgewebe vom Bauch mittels einer Nadel entnommen wurde. Anschließend wurde die Wunde mit einem Steri-Strip und einem Pflaster versorgt.

2.1.5 Bariatrische Chirurgie

Die bariatrische Chirurgie wurde bei hochgradig adipösen Patienten mit der entsprechenden Indikation durchgeführt. Hierbei war die Entscheidung zur

Operation unabhängig von der Studienteilnahme an der BARIA-DDZ-Studie. Im Rahmen der bariatrischen Operation wurden Lebergewebeproben entnommen. Die Durchführung erfolgte am St. Martinus Krankenhaus sowie am Zentrum für Allgemeine Chirurgie und Viszeralchirurgie an der Schön Klinik Düsseldorf durch Dr. Matthias Schlensak. Die Leberbiopsien wurden intraoperativ mit einer laparoskopischen Biopsiezange gewonnen (maximal 1 g) und das entsprechende Areal der Leber wurde versiegelt.

2.1.6 Hyperinsulinämischer euglykämischer *Clamp* (HEC)

Die Insulinsensitivität der Studienteilnehmer wurde mittels der *Glukose-Clamp-Technik* bestimmt [62, 63]. Mit dieser Methode kann die Insulinsensitivität des gesamten Körpers in vivo bestimmt werden. Da unter postprandialen/Insulin-stimulierten Bedingungen ca. 85 % der Glukose von der Muskulatur aufgenommen wird, wird durch diese Methode praktisch jedoch vor allem die Insulinsensitivität der Muskulatur bestimmt.

Durch stetige Insulin- und Glukoseinfusion soll ein Zustand erreicht werden, bei dem die Rate der infundierten Glukose der Rate der Metabolisierung (M) der Glukose, also der Aufnahme in die Gewebe, entspricht [62]. Die endogene Glukoseproduktion der Leber und der Niere wird durch die Insulininfusion supprimiert. Der Blutglukosespiegel wird durch stetige Anpassung der Glukoseinfusionsrate auf einem euglykämischen Niveau gehalten.

Da die Glukoseaufnahme in die Zellen durch Insulin vermittelt wird, benötigen Personen, die eine hohe Insulinsensitivität aufweisen, eine größere Menge an Glukose, d. h. höhere Infusionsraten.

Zur Berechnung der Insulinsensitivität wurde der M-Wert bestimmt. Da die Glukoseinfusion oft nicht exakt der Glukosemetabolisierung entspricht, mussten geringe Schwankungen der Blutglukose (*Space-Correction*, SC) einberechnet werden. Der renale Glukoseverlust (*Urinary-Glukose-Loss-Correction*, UC) war in diesem Setting vernachlässigbar, da die Zielblutglukosekonzentration von 90 mg/dl weit unter der Schwelle für renalen Glukoseverlust liegt.

$$M = GINF - UC - SC [62]$$

Ablauf der Untersuchung:

Der Proband musste für die Untersuchung mindestens 10 Stunden nüchtern sein. Er durfte zudem in den letzten 10 Stunden nicht geraucht haben. Orale

antihyperglykämische Medikamente mussten mindestens 3 Tage vor der Untersuchung abgesetzt werden. Bei Insulintherapie sollte die letzte Injektion ebenfalls mindestens 8 Stunden vor Testbeginn erfolgt sein. Am Morgen des Tests durfte kein Insulin gespritzt werden. In den letzten 3 Tagen vor der Untersuchung sollte keine mittelschwere bis schwere körperliche Aktivität durchgeführt werden. Bei vorbekannter Thrombose oder Thrombophlebitis durfte die Untersuchung nicht durchgeführt werden. Bei Frauen wurden der Zyklustag sowie die Zykluslänge unter *Bemerkungen* dokumentiert, sofern nicht vorab bereits erfolgt und daher berechenbar. Es wurden Körpergröße und Gewicht des Studienteilnehmers bestimmt und die Körperoberfläche nach Dubois berechnet [64]. Schließlich wurde der Proband gebeten, sich in halbbliegender Position im temperierten Untersuchungsraum (20 bis 24 °C) ins Untersuchungsbett zu legen.

Insulininfusion für Perfusorpumpe (1 IU/ml)

20%-Glukoseinfusion

Insulin-Bolus und kontinuierliche Insulin-Infusion:

Infusionsrate 10-Min-Insulinbolus [ml/h] = $80 \text{ mIU} * \text{_____ m}^2 \text{ KÖF} * 60 / 1000 = \text{_____ ml/h}$
 Infusionsrate kont. Insulininf. [ml/h] = $40 \text{ mIU} * \text{_____ m}^2 \text{ KÖF} * 60 / 1000 = \text{_____ ml/h}$

Nach Anlage einer Venenverweilkanüle am kontralateralen Arm erfolgte zunächst eine basale Blutentnahme zur Bestimmung der Blutglukose sowie von Kalium und Ethanol. Ab Start der Clamp-Untersuchung wurde alle 5 Minuten die Blutglukose bestimmt. Zu weiteren festgelegten Zeitpunkten wurden Insulin, C-Peptid und Kalium ermittelt. Start und Infusionsgeschwindigkeit der 20%igen Glukoseinfusion orientierten sich an der Höhe bzw. der Abfall- oder Anstiegsgeschwindigkeit der Blutglukose. Die zu erreichende Ziel-Blutglukose (BG) betrug 90 mg/dl bei stabiler Glukose-Infusionsrate zumindest über die letzten 30 min des HEC (*Steady State*).

2.2 Labormethoden

2.2.1 Blutanalysen

Die Glukosekonzentration im Vollblut wurde mittels Glukoseoxidasetest bestimmt (Biosen C-line Glukosemessgerät, EKG Diagnostic GmbH, Barleben, Deutschland) [65]. C-Peptid- und Insulinkonzentrationen wurden mittels Radioimmunoassay gemessen (Millipore, St. Charles, Missouri, USA).

Die Konzentrationen von TNF- α und IL-6 im Blut wurden mittels Quantikine High Sensitivity ELISA-Kits (R&D Systems, Wiesbaden, Deutschland) bestimmt [65]. Triglyzeride, Cholesterin (Roche/Hitachi, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) und FFA (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany) wurden photometrisch ermittelt [66].

Die Konzentrationen der TBARS wurden fluorometrisch im Serum und im Fettgewebe bestimmt (BioTek, Bad Friedrichshall, Deutschland) [66].

2.2.2 Bestimmung der Aktivität der Citratsynthase im subkutanen Fettgewebe

Zur Abschätzung der mitochondrialen Dichte erfolgte die Bestimmung der Aktivität des Enzyms Citratsynthase (CSA) aus den Fettgewebsbiopsien [67]. Die Messung wurde mittels eines speziellen Probenkits durchgeführt (SIGMA ALDRICH® Citrat Synthase Assay Kit, St.Louis, USA). Das zu untersuchende Gewebe wurde vorher homogenisiert (für Fettgewebe werden in der Regel 50 mg eingesetzt).

Durch die Citratsynthase wird die Kondensation von Oxalacetat und Acetyl-CoA zu Citrat katalysiert. Mit diesem Schritt beginnt der Citratzyklus [68]. Das Prinzip der Bestimmung ist folgendes: Durch die Hydrolyse von Acetyl-CoA kommt es zu einer Bildung von CoA mit einer Thiol-Gruppe (CoA-SH). Diese Verbindung reagiert in der Reaktionsmischung mit 5,5'-Dithiobis-2-Nitrobenzoesäure (DTNB) zu 5-Thio-2-Nitrobenzoesäure (TNB). Die TNB ist ein gelbes Produkt. Die Farbintensität wurde dann bei 412 nm photometrisch bestimmt. Bei einer weiteren Messung wurde Oxalacetat hinzugegeben. Die Steigung der Absorption ($\Delta A/\text{Minute}$) wurde errechnet und als nmol/min/mg Protein angegeben [69, 70].

2.2.3 Bestimmung der mitochondrialen DNA

Mitochondrien besitzen ihre eigene DNA. Daher kann über die Quantifizierung der mitochondrialen DNA auf die mitochondriale Dichte im untersuchten Gewebe geschlossen werden [71]. Die DNA wurde aus der Fettgewebsprobe (mittels DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany)) nach Protokoll des Herstellers extrahiert. Die Quantifizierung der mitochondrialen DNA erfolgte durch quantitative PCR (qPCR) mittels spezifischer Primer (NADH-Dehydrogenase-Subunit 1, Lipoproteinlipase) [71].

2.2.4 Messung der mitochondrialen Kapazität

Die mitochondriale Atmung wurde mittels hochauflösender Respirometrie durch Oxygraphen der Firma Oroboros (Oxygraph-2k, Oroboros Instruments, Innsbruck, Österreich) ex vivo im Fettgewebe gemessen.

Ein Oxygraph besteht aus zwei von Kupfer umgebenen Kammern, die jeweils mit einem polarographischen Sensor (POS) ausgestattet sind. Der Sauerstoffgehalt und die Temperatur dieser Kammern lassen sich regulieren. Der POS setzt sich aus einer Gold-Kathode und einer Silberchlorid-Anode zusammen, die sich in einer Kaliumchlorid-Lösung befinden. Die Gewebeprobe ist von den Elektroden durch eine sauerstoffdurchlässige Membran getrennt. Sauerstoff diffundiert von der Gewebsprobe aufgrund des Sauerstoffpartialdruckunterschieds zwischen Membranaußenwand und Membraninnenwand durch die Membran zur Kathode und wird dort reduziert. Dadurch entsteht ein Strom, der proportional zur Menge des verbrauchten Sauerstoffs ist. Dieser Strom wird in ein elektrisches Signal umgewandelt, wodurch die Sauerstoffkonzentration in der Kammer bestimmt werden kann. Durch ein Analyseprogramm (DatLab, Oroboros Instruments, Innsbruck, Österreich) kann aus der abnehmenden Sauerstoffkonzentration der Sauerstofffluss (in pmol pro Sekunde, bezogen z. B. auf die Probenmenge) dargestellt werden [72, 73].

Die Mitochondrien benötigen für die rasche Oxidation von Substraten ADP und Phosphat. Es wurden fünf Zustände beschrieben (siehe Tabelle 2), bei denen die Geschwindigkeit der Abläufe der Atmungskette von den jeweiligen Substraten abhängig ist [74].

	Im Überschuss vorhanden	Limitierender Faktor für die Atmungsrate
Zustand 1	Sauerstoff	ADP, Substrat
Zustand 2	Sauerstoff, ADP	Substrat
Zustand 3	Sauerstoff, ADP, Substrat	Maximale Geschwindigkeit
Zustand 4	Sauerstoff, Substrat	ADP
Zustand 5	ADP, Substrat	Sauerstoff

Tabelle 2: Zustände der Atmungskette nach Britton Chance [75]

ADP = Adenosindiphosphat

Durch Zugabe (Titration) von bestimmten Substraten und Inhibitoren der Atmungskette zu definierten Zeitpunkten in die Kammer können verschiedene Zustände der mitochondrialen Funktion abgebildet werden. Die Titration der Substanzen erfolgte für die BARIA-DDZ-Studie nach einem vorab festgelegten, speziell für das Fettgewebe adaptierten Substrate-Uncoupler-Inhibitor-Titration(SUIT)-Protokoll.

Für die Analyse an subkutanem Fettgewebe wurde zunächst Digitonin ($5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) in die Kammer gegeben, um eine Durchlässigkeit der Membranen zu erzeugen. Im Anschluss wurden die Substrate hinzugegeben.

Hier verwendetes SUIT-Protokoll:

Substrat	Wirkung
Malat (2 mM) und Octanoylcarnitin (1 mM)	LEAK-Zustand (L) – Ruhezustand mit maximalem Membranpotential, F1/FO-ATP-Synthase inaktiv, da kein Elektronenfluss durch ETF-Ubichinon-Oxidoreduktase ($[\text{ETF}]_L$)
ADP (2,5 mM)	ADP-abhängige OXPHOS-Kapazität ($[\text{ETF}]_P$)
ADP (2,5 mM) + Glutamat (10 mM)	Elektronenfluss durch ETF und Komplex I ($[\text{ETF}+\text{CI}]_P$)
ADP (2,5 mM) + Glutamat (10 mM) + Succinat (10mM)	Zustand 3, maximale Kapazität des OXPHOS-Systems (Elektronenfluss durch ETF, Komplex I, Komplex II) ($[\text{ETF}+\text{CI}+\text{II}]_P$)
Cytochrome c (6 μM)	Testung der Integrität der äußeren Mitochondrienmembran
Oligomycin (2,5 μM)	LEAK-Zustand – Hemmung der OXPHOS ($([\text{ETF}+\text{CI}+\text{II}]_L)$)
Carbonyl Cyanid p-[trifluoromethoxyl]-phenylhydrazon (FCCP)	Maximaler Elektronentransfer-Zustand (E), F1/FO-ATP-Synthase entkoppelt ($[\text{ETF}+\text{CI}+\text{II}]_E$)
Antimycin A	Beendigung der Aktivität der Atmungskette, Mitochondrien-unabhängige Respiration

Tabelle 3: SUIT-Protokoll

ADP = Adenosindiphosphat

OXPHOS = oxidative Phosphorylierung

2.3 Studienkollektiv

2.3.1 Ablauf der Studie

Die hier durchgeführte Arbeit erfolgte im Rahmen der Studie „Der Effekt bariatrischer Chirurgie auf Energiestoffwechsel und Insulinsensitivität bei Adipositas Grad II–III“ (Akronym: BARIA-DDZ Studie; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01477957).

Die Studie wurde nach der Deklaration von Helsinki (2013) zu den ethischen Grundsätzen für medizinische Forschung am Menschen, einschließlich der Forschung an identifizierbaren menschlichen Materialien und Daten durchgeführt [76].

Die zustimmende Bewertung der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Studien-ID: 3516) sowie der Ethikkommission der Ärztekammer Nordrhein (Studien-ID: 2017222) lag vor. Es handelt es sich um eine prospektive Kohortenstudie mit geplanten 400 Personen mit Adipositas Grad 2 und 3 sowie 50 gesunden Kontrollpersonen. Der für diese Arbeit relevante Teil der Studie wurde in Kooperation mit Dr. med. Matthias Schlensak am St. Martinus Krankenhaus in Düsseldorf von 2012 bis 2017 durchgeführt.

Bei allen Studienteilnehmern wurde eine bariatrische Operation mit dem Ziel einer Gewichtsreduktion vorgenommen. Die Indikation zur bariatrischen Chirurgie wurde nicht im Rahmen der Studie gestellt.

Für die hier vorliegende Arbeit wurde eine Subgruppe von 34 Personen des gesamten Studienkollektivs ausgewertet, welche im Zeitraum von 2012 bis 2017 in die Studie eingeschlossen wurden. Es wurden die teilnehmenden Personen der BARIA-Studie berücksichtigt, bei denen Respirometriemessungen aus dem subkutanen Fettgewebe vor der bariatrischen Operation sowie im weiteren Studienverlauf durchgeführt wurden.

2.3.2 Rekrutierung der Studienteilnehmer

Die Rekrutierung erfolgte durch Klinikmitarbeiter von Hr. Dr. Schlensak im Rahmen der Anmeldung zur bariatrischen Chirurgie. Potenziell interessierten Studienteilnehmern wurden Informationsmaterialien mitgegeben oder zugesandt. Bei weiterhin bestehendem Interesse wurde ein Termin zur

Voruntersuchung (Screening) am Deutschen Diabetes-Zentrum (DDZ) vereinbart.

2.3.3 Voruntersuchung (*Screening*)

Die Voruntersuchung erfolgte bis zu vier Wochen vor dem ersten Studientag. An dem Screening-Termin oder bereits vorab wurden dem Interessenten die Patienten- bzw. Probandeninformation sowie die Einwilligungserklärung zur Studie ausgehändigt und der potenzielle Teilnehmer wurde ausführlich über die Studie aufgeklärt. Etwaige Fragen wurden besprochen. Nach einer ausreichenden Bedenkzeit unterschrieb der Teilnehmer die Einwilligungserklärung zur Studie. Erst dann erfolgte die Voruntersuchung.

Zunächst wurde nach ausführlicher Anamnese und Besprechung der Vormedikation geklärt, ob auf den Probanden alle Einschlusskriterien und keine Ausschlusskriterien zutrafen. Nur dann war eine Studienteilnahme möglich, ansonsten schied der Teilnehmer als *Screening-Failure* aus.

Es erfolgten eine standardisierte körperliche Untersuchung sowie eine Bestimmung der anthropometrischen Parameter (Größe, Gewicht, BMI, Bauch- und Hüftumfang).

Zudem wurde bei jedem Teilnehmer ein Ruhe-Elektrokardiogramm (EKG) geschrieben und der Blutdruck sowie die Pulsfrequenz wurden bestimmt. Jeder Teilnehmer erhielt eine venöse Blutabnahme der Routineparameter (klinische Chemie, großes Blutbild, Gerinnung).

Zusätzlich wurden Blutglukosekonzentration, C-Peptid, Insulinkonzentration, TNF- α , IL-6, Triglyzeride, Cholesterin, FFA und TBARS bestimmt.

Außerdem wurde eine Testung auf eine bestehende Hepatitis-B/C und auf eine HIV-Infektion durchgeführt.

Die Analyse der Laborparameter erfolgte im biomedizinischen Labor des DDZ sowie im Zentrallabor des Universitätsklinikums Düsseldorf (für Hepatitis- und HIV-Serologie). Bei Frauen im gebärfähigen Alter wurde eine Urinprobe entnommen und ein Schwangerschaftstest (Clearblue®) durchgeführt.

2.3.4 Ein- und Ausschlusskriterien

Bei den Probandinnen wurde darauf geachtet, dass die Untersuchung möglichst zu einem vergleichbaren Zeitpunkt des Zyklus stattfand und keine Schwangerschaft vorlag.

Die Ausschlusskriterien beinhalteten Störgrößen, die einen direkten Einfluss auf den Stoffwechsel der Probanden hatten (Medikation, Niereninsuffizienz, HIV/AIDS, Krebserkrankung, schwere chronische Erkrankungen, Autoimmunerkrankungen, schwere psychiatrische Erkrankungen). Darüber hinaus wurden aufgrund der Menge des entnommenen Blutes Probanden mit einer bestehenden Anämie ausgeschlossen, ebenso wie Patienten, deren Compliance unter den Studienbedingungen nicht gegeben war.

Teilnehmer, die folgende Einschlusskriterien erfüllten und auf die keine Ausschlusskriterien zutrafen, wurden in die Studie eingeschlossen.

Einschlusskriterien:

- Alter ≥ 20 und ≤ 70 Jahre
- BMI 20 bis 25 kg/m² (normalgewichtige Probanden), 35 bis 39,9 kg/m² (Adipositas Grad 2), > 40 kg/m² (Adipositas Grad 3)
- Einwilligungsfähigkeit

Ausschlusskriterien:

- Akute Infektionen (CRP > 5 mg/dl, Körpertemperatur $> 37,5$ °C)
- Autoimmunerkrankungen und immunkompromittierende Erkrankungen
- Niereninsuffizienz (Kreatinin $> 1,5$ mg/dl)
- Schwere chronische Erkrankungen
- Anämie (Hb < 12 g/l für Männer, Hb < 11 g/l für Frauen, Kontrolle an jedem Untersuchungstag)
- Teilnahme an einer anderen Interventionsstudie innerhalb von 2 Monaten vor der Untersuchung
- Einnahme von immunomodulatorischen Medikamenten (z. B. orale Cortisonpräparate, Biologicals)
- Medikation mit antithrombotisch wirksamen Arzneimitteln

- Schilddrüsenerkrankungen mit instabiler Stoffwechsellage (Änderung der L-Thyroxin-Dosis innerhalb der letzten 6 Wochen, TSH und fT4 außerhalb des Normbereichs)
- Schwangerschaft, Stillperiode
- früherer/aktueller Alkohol- und/oder Drogenabusus
- psychiatrische Erkrankungen einschließlich schwerer psychiatrisch relevanter Depression, die einer medikamentösen Behandlung bedarf
- HIV-, Hepatitis-B- oder -C-Erkrankung
- Lebererkrankung, die nicht auf das Vorliegen von NAFLD zurückgeführt wird
- Nachtschichtarbeit oder Umstände, die keinen normalen Tag-Nacht-Rhythmus erlauben
- Störungen der Blutgerinnung oder Wundheilung
- Überempfindlichkeit gegen Lokalanästhetika
- Krebserkrankung
- Kontraindikationen für eine MRT-Untersuchung (metallische Implantate, Klaustrophobie etc.) (relatives Ausschlusskriterium)

2.3.5 Ablauf der Untersuchungen

Die Teilnehmer wurden zu festgelegten Zeitpunkten im DDZ untersucht. Es erfolgte eine Untersuchung bis zu 4 Wochen vor der bariatrischen Operation (V1). Eine Wiederholung der Untersuchung erfolgte 2 Wochen (V2), 3 Monate (V3), 6 Monate (V4) und 12 Monate (V5) nach dem Eingriff. Für die vorliegende Arbeit wurden nur die Ergebnisse aus der Untersuchung vor der Operation sowie aus den Untersuchungen 3 Monate und 12 Monate nach der Operation berücksichtigt, da hier die entscheidenden metabolischen Veränderungen für die zu bearbeitende Fragestellung vermutet wurden.

Ablauf des Untersuchungstags:

Zunächst wurden die anthropometrischen Parameter bestimmt.

Danach wurde eine Fettgewebsbiopsie aus dem Unterhautfettgewebe des Bauches unter Lokalanästhesie entnommen. Im Anschluss wurde der hyperinsulinämisch-euglykämische Clamptest zur Messung der muskulären Insulinresistenz durchgeführt. Zu definierten Zeitpunkten während des

Untersuchungstags wurden Blutproben zur Bestimmung von Zytokinen, Metaboliten und Hormonen abgenommen.

Nach der ersten Untersuchung (V1) erfolgte die bariatrische Operation.

Diese wurde nach einer der folgenden Methoden durchgeführt:

Magenband, Magenbypass, Omega-Loop-Bypass, *Gastric-Sleeve-Resection* oder biliopankreatische Diversion mit *Duodenal-Switch*. Die Wahl der Methode richtete sich nach dem Ausmaß des Übergewichts sowie den Ernährungsgewohnheiten und wurde vom Chirurgen zusammen mit dem Patienten festgelegt. Während des Eingriffs wurden die Gewebeprobe aus subkutanem Fett sowie aus dem Lebergewebe gewonnen.

Ein Teil des Lebergewebes wurde zur histologischen Begutachtung des Fettleberstatus in der Pathologie der Heinrich-Heine-Universität durch Prof. Irene Esposito aufgearbeitet und entsprechend des Fettleberstatus befundet.

2.3.6 Abbruchkriterien

Die Studie konnte jederzeit auf Wunsch des Patienten ohne Einfluss auf seine medizinische Behandlung abgebrochen werden. Sie wurde insbesondere bei folgenden Situationen durch den Studienarzt beendet:

- Hypoglykämie (Blutglukose < 60 mg/dl) im euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamp
- klinisch relevante Zustände: z. B. Atemnot, Hypotonie, Hypertonie, Herzrhythmusstörungen

2.3.7 Probandenentgelt

Jeder Proband erhielt eine Aufwandsentschädigung. Diese setzte sich wie folgt zusammen:

- Voruntersuchung 25,- Euro
- Biopsien während bariatrischer OP 300,- Euro
- Clamp 200,- Euro
- Fettbiopsie 100,- Euro

Bei einer teilweisen Studienteilnahme wurde die Aufwandsentschädigung anteilig ausgezahlt. Die Fahrtkosten wurden ebenfalls erstattet.

2.4 Fallzahlkalkulation und statistische Analyse

In die Analysen wurden alle Studienteilnehmer aufgenommen, die bis 2018 in die BARIA-DDZ-Studie eingeschlossen worden waren und von denen Daten für die mitochondriale Atmung im subkutanen Fettgewebe mindestens zu den Zeitpunkten vor der Operation sowie 12 und 52 Wochen nach der Operation vorlagen. All diese Studienteilnehmer wurden am St. Martinus Krankenhaus in Düsseldorf operiert; ab 2018 erfolgte ein Wechsel des kooperierenden Krankenhauses. Aufgrund dessen wurde in diesen Analysen nur die bis 2018 untersuchte Personengruppe betrachtet.

Primärer Endpunkt dieser Pilotstudie aus der BARIA-DDZ-Studie war es, zu untersuchen, ob ein Jahr nach der bariatrischen Operation Unterschiede in der maximalen gekoppelten und entkoppelten mitochondrialen Atmung ($[ETF/CI/CII]_P$; $[ETF+CI+II]_E$) im subkutanen Fettgewebe zwischen adipösen Personen ohne NAFLD und solchen mit NASH vorliegen. Hierfür planten wir mit $n = 12$ /Gruppe. Unter Annahme eines Cohen's d von 1,2 waren wir mit dieser Fallzahl in der Lage, größere Unterschiede in der maximalen mitochondrialen Respiration ein Jahr nach der bariatrischen Operation mit einer Power von 80 % zu detektieren.

Aufgrund einer ungleichen Verteilung des NAFLD-Schweregrads im untersuchten Kollektiv sowie wegen der Tatsache, dass einzelne Respirometriemessungen nicht die vorgegebenen Qualitätskriterien erfüllten, standen für die Auswertung des primären Endpunkts $n = 12$ Personen für die Gruppe adipöser Personen ohne NAFLD sowie $n = 10$ Probanden für die Gruppe adipöser Personen mit NASH zur Verfügung.

Die statistischen Auswertungen wurden mit dem Programm GraphPad Prism 8, Version 8.4.3 und Version 9.4 (GraphPad Software, San Diego, CA 92108) erstellt. Die klinische Datenbank wurde mithilfe von Microsoft Excel, Version 16.50 (21061301) geführt.

Die Charakteristika der Studienteilnehmer wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung für normalverteilte Parameter bzw. als Median [25%-Quartil;75%-Quartil] für log-normalverteilte Parameter dargestellt.

Die Darstellung aller weiteren Daten erfolgte, soweit nicht gesondert gekennzeichnet, als Mittelwert \pm Standardfehler. Nicht normalverteilte

Analyseergebnisse wurden logarithmiert, sodass sie am ehesten einer Normalverteilung entsprachen.

Vergleiche zwischen den drei Gruppen wurden zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-Anova und Tukey-Test durchgeführt. Im Fall von ungleichen Standardabweichungen wurde die Analyse mittels Brown-Forsythe-ANOVA und Dunnett's T3-Test durchgeführt.

Der lineare Zusammenhang zwischen zwei Parametern wurde mittels Pearson-Korrelationen berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der teilnehmenden Personen vor der bariatrischen Operation, unterteilt nach NAFLD-Status

SAF-Score	NoNAFL	NAFL	NASH
N (%)	12	12	10
Fibrose	0,08 ± 0,08	0,17 ± 0,11	1 ± 0,37
Steatose-Grad	0 ± 0	1,33 ± 0,14	1,8 ± 0,25
Ballooning	0,75 ± 0,22	0,58 ± 0,19	1,2 ± 0,13
Entzündung	0,17 ± 0,11	0,58 ± 0,19	1,2 ± 0,13
NAS	0,92 ± 0,90	2,08 ± 0,67	4 ± 0,82
Weiblich, n (%)	11 (92)	9 (75)	7 (70)
Alter (Jahre)	35 ± 5	41 ± 7	45 ± 9
BMI (kg/m ²)	52,3 ± 5,8	53,5 ± 7,4	52,6 ± 6,3
T2D, n	1	1	6
HbA1c (%)	5,6 ± 0,3	5,7 ± 0,4	6,3 ± 1,2
FBG (mg/dl)	86,8 ± 15,4	89,1 ± 8,3	107 ± 26,7
Cholesterin (mg/dl)	171 ± 22	196 ± 66	190 ± 29
Triglyceride (mg/dl)	85 [71-117,5]	136,5 [90,3-178]	138,5 [105,5-166]
M-Wert (mg/min/kg)	2,6 [1,9-4,6]	2,4 [2,2-3,4]	2 [1,4-2,3]
Insulin (µU/ml)	16 [9,7-22,8]	14,4 [12,5-17,8]	17,7 [15,5-26,7]

Tabelle 4: Charakteristika der teilnehmenden Personen vor der bariatrischen Operation, unterteilt nach NAFLD-Status

Mittelwert ± Standardabweichung für normalverteilte Parameter; Median [25%-Quartil;75%-Quartil] für log-normalverteilte Parameter; Abkürzungen: NAFLD = Non-Alcoholic-Fatty-Liver-Disease, NoNAFL = keine Fettlebererkrankung, NAFL = nicht alkoholische Steatose, NASH = nicht alkoholische Steatohepatitis; N = Grundgesamtheit; BMI = Body-Mass-Index; T2D = Typ-2-Diabetes; FBG = Nüchternblutglukose (Fasting-Blood-Glucose); M-Wert = Ganzkörper-Insulinsensitivität; NAS = NAFLD-Activity-Score; SAF-Score = Steatosis-Activity-Fibrosis-Score

Die Teilnehmenden wurden anhand des SAF-Scores in 3 Subgruppen unterteilt: 12 Personen hatten keine Fettlebererkrankung (noNAFL), 12 Personen eine nicht alkoholische Steatose (NAFL) und 10 Personen hatten eine nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH).

Der überwiegende Anteil der Studienteilnehmer war weiblich (79 %). Die Gruppe der Personen mit NASH war im Mittel am ältesten. Hinsichtlich des BMI ergaben

sich nur minimale Unterschiede zwischen den Gruppen. In allen 3 Gruppen lag im Mittel eine Adipositas Grad 3 vor. Der Anteil des glykierten Hämoglobins (HbA1c-Wert) und die Nüchtern-Blutglukose-Werte sowie die Zahl der Personen mit Typ-2-Diabetes waren in der Gruppe der Probanden mit einer NASH am höchsten. Die Triglyceride und die Cholesterin-Werte waren in der Gruppe der Personen ohne NAFLD am niedrigsten. In der NASH-Gruppe lagen die höchsten Werte für Insulin vor, der M-Wert als Maß für die Ganzkörper-Insulinsensitivität war in dieser Gruppe am geringsten.

3.2 Metabolische Parameter im Zeitverlauf nach der bariatrischen Operation

3.2.1 Body-Mass-Index im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abbildung 1 zeigt den BMI in den unterschiedlichen Subgruppen vor sowie 12 und 52 Wochen nach der Operation. Zu den drei untersuchten Zeitpunkten ergaben sich keine Unterschiede zwischen den drei Subgruppen. Verglichen mit den Werten vor der Operation zeigte sich nach 12 und 52 Wochen eine deutliche Reduktion des BMI-Werts in allen 3 Gruppen. Der Rückgang betrug in der noNAFL-Gruppe 33 %, in der NAFL-Gruppe 36 % und in der NASH-Gruppe 26 %.

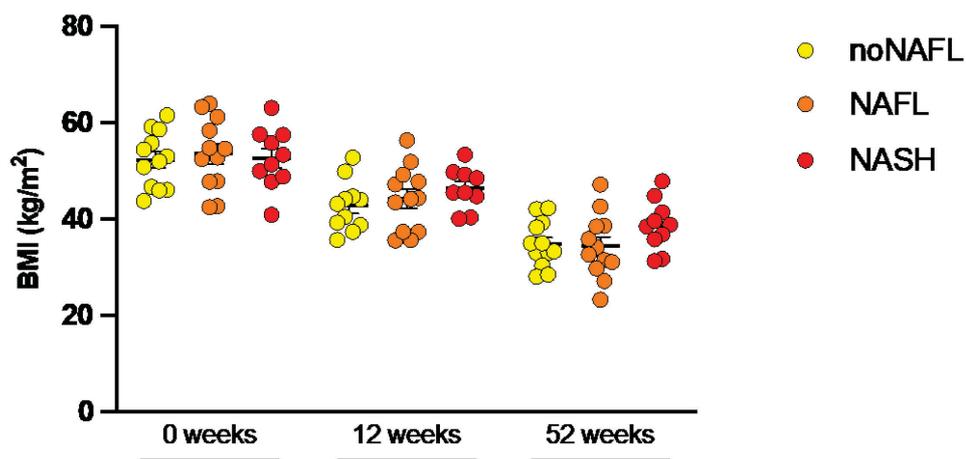


Abbildung 1: Body-Mass-Index vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: BMI = Body-Mass-Index

Daten sind normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

noNAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 12 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 9 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen;

3.2.2 Gewichtsreduktion im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abbildung 2 zeigt die Gewichtsreduktion in Prozent von Woche 0 bis 12 und in Woche 52. Verglichen mit dem Ausgangswert vor der Operation war nach 12 Wochen bereits eine Reduktion des Körpergewichts nachweisbar, die nach 52 Wochen noch deutlicher zu beobachten war (s. Abbildung 2). Nach 52 Wochen zeigte sich zudem eine geringe Gewichtsreduktion in der NASH-Gruppe, verglichen mit der no_NAFL-Gruppe.

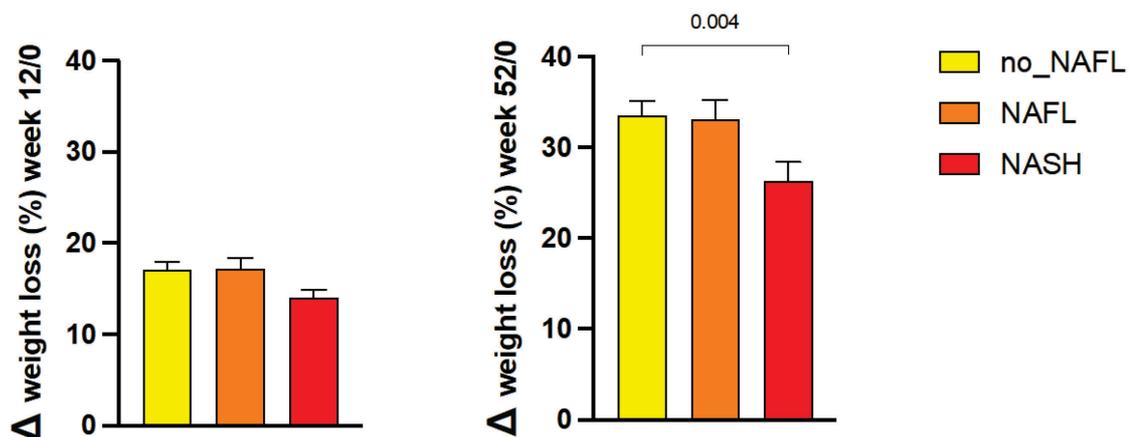


Abbildung 2: Gewichtsverlust in Prozent 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test; p = 0,004 no_NAFL vs. NASH;

noNAFL: n = 12; NAFL: n = 12; NASH: n = 9 nach 12 Wochen;

noNAFL: n = 12; NAFL: n = 12; NASH: n = 10 nach 52 Wochen

3.2.3 HbA1c im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Des Weiteren wurde der HbA1c-Wert im Verlauf analysiert (s. Abbildung 3).

Es ergaben sich zu den untersuchten Zeitpunkten keine Unterschiede zwischen den Gruppen. In allen 3 Gruppen kam es verglichen mit dem Ausgangswert vor der Operation nach 12 und 52 Wochen zu einer Reduktion des HbA1c-Wertes.

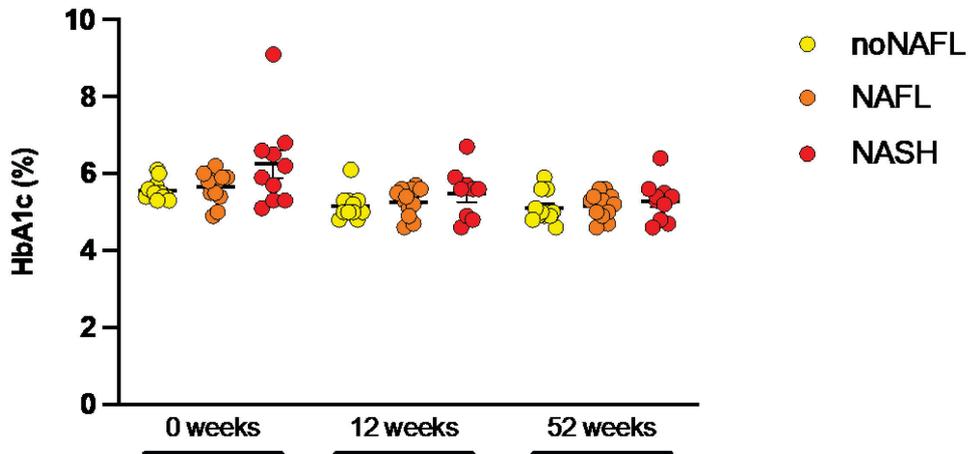


Abbildung 3: HbA1c-Wert vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu dem Zeitpunkt 0 Wochen mittels Brown-Forsythe-ANOVA und Dunnett-Test und zu den Zeitpunkten 12 und 52 Wochen mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

noNAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 12 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 9 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen;

3.2.4 Nüchtern-Blutglukose im Verlauf über 52 Wochen nach der Operation

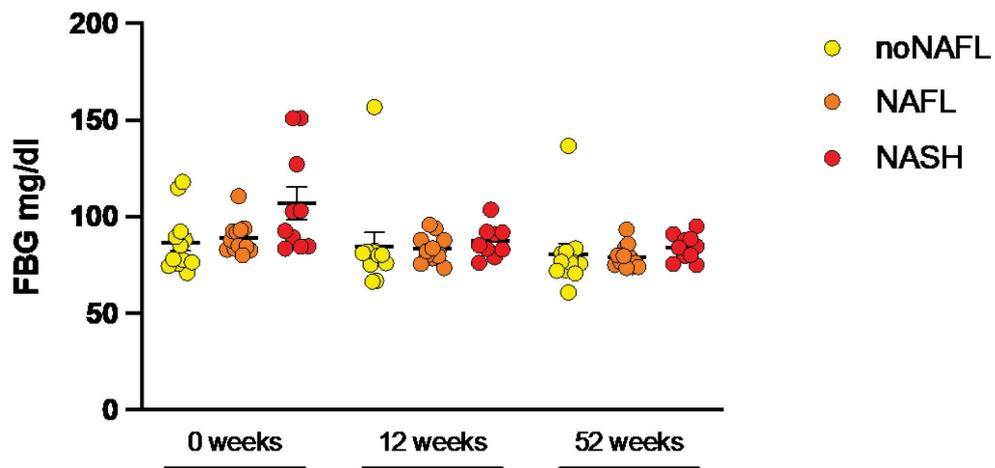


Abbildung 4: Nüchtern-Blutglukose-Konzentration vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: FBG = Fasting Blood Glucose, Daten sind normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu dem Zeitpunkt 0 Wochen

mittels Brown-Forsythe-ANOVA und Dunnett-Test und zu den Zeitpunkten 12 und 52 Wochen mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

noNAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 12 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 9 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen

In Abbildung 4 ist die Konzentration der Blutglukose vor sowie 12 und 52 Wochen nach der Operation dargestellt. Es zeigten sich zu keinem Zeitpunkt Unterschiede zwischen den drei untersuchten Gruppen. Verglichen mit dem Ausgangswert vor der Operation war nach 12 und 52 Wochen in allen Gruppen ein Rückgang der Konzentration der Blutglukose zu erkennen.

3.2.5 Insulin-Konzentrationen im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

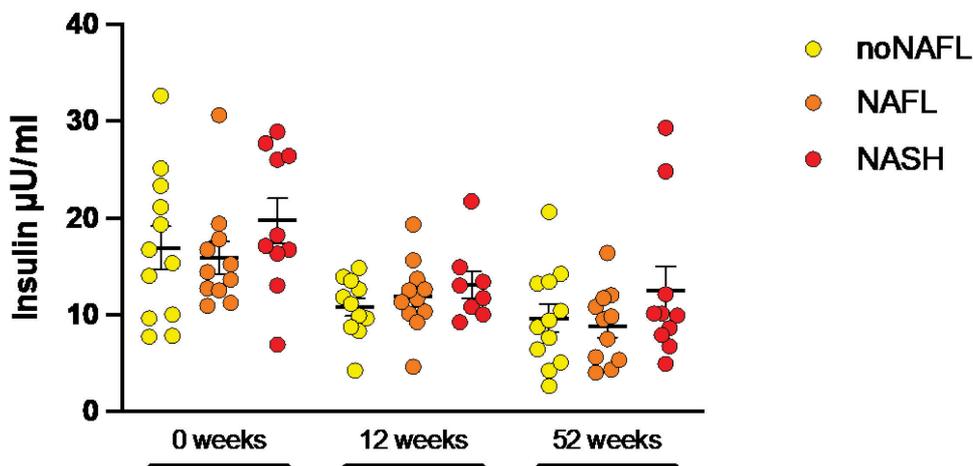


Abbildung 5: Insulin-Konzentrationen im Blut vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

noNAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NAFL: n = 11 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 11 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 8 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen;

In Abbildung 5 ist die Insulinkonzentration im Blut vor der Operation sowie nach 12 und 52 Wochen dargestellt. Zu den drei Zeitpunkten zeigten sich keine Unterschiede zwischen den untersuchten Subgruppen. Verglichen mit dem Ausgangswert vor der Operation ließ sich in allen 3 Gruppen nach 12 und 52

Wochen eine Abnahme der Insulinkonzentration im Blut beobachten (s. Abbildung 5).

3.2.6 Verlauf der freien Fettsäuren über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Außerdem wurde die Konzentrationen der FFA zu den Zeitpunkten vor der bariatrischen Operation sowie 12 und 52 Wochen später untersucht (s. Abbildung 6). Zu allen drei Zeitpunkten gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Verglichen mit dem Ausgangswert vor der Operation bestand in der noNAFL- und der NAFL-Gruppe nach 12 Wochen zunächst ein Anstieg der Konzentration der FFA. Nach 52 Wochen war in allen 3 Gruppen ein Rückgang im Vergleich zu vor der Operation und zu dem Wert nach 12 Wochen zu beobachten.

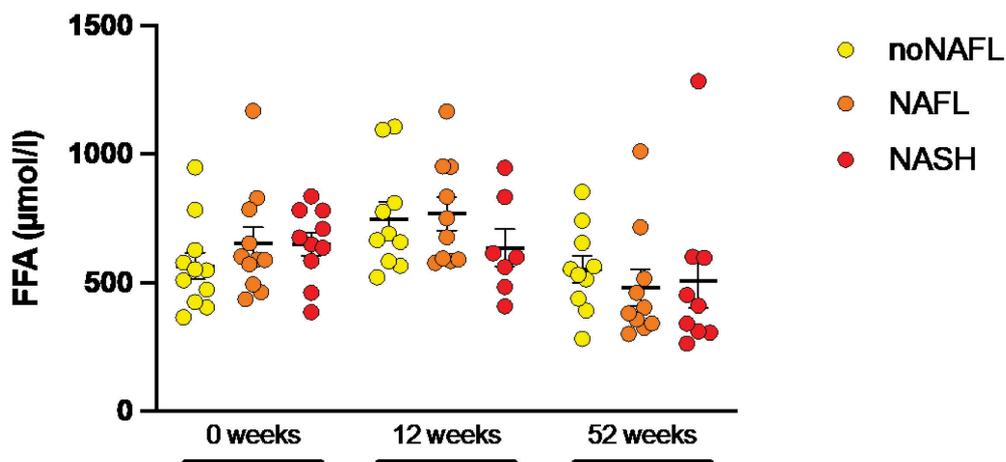


Abbildung 6: Free-Fatty-Acids-Wert vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: FFA = Free Fatty Acids = Freie Fettsäuren

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

noNAFL: n = 11 nach 0 Wochen, n = 10 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen; NAFL: n = 11 nach 0 Wochen, n = 10 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 7 nach 12 Wochen, n = 9 nach 52 Wochen

3.2.7 Veränderung der Ganzkörper-Insulinsensitivität (M-Wert) im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Zudem untersuchten wir die Veränderungen der Ganzkörper-Insulinsensitivität (M-Wert) der Studienteilnehmer vor der bariatrischen Operation sowie 12 und 52 Wochen danach (s. Abbildung 7). Sowohl vor der Operation als auch 52 Wochen später waren die niedrigsten Werte in der NASH-Gruppe zu beobachten. Zwölf und 52 Wochen nach der Operation war eine deutlich niedrigere Ganzkörper-Insulinsensitivität in der NASH-Gruppe verglichen mit der NAFL-Gruppe festzustellen ($p = 0,007$ und $p = 0,017$). Insgesamt fand sich in allen 3 Gruppen nach 12 und 52 Wochen ein Anstieg der Ganzkörper-Insulinsensitivität. In der noNAFL-Gruppe zeigt sich nach 52 Wochen ein Anstieg von 69 %, in der NAFL-Gruppe einer von 114 % und in der NASH-Gruppe einer von 131 % im Vergleich zur Untersuchung vor der bariatrischen Operation.

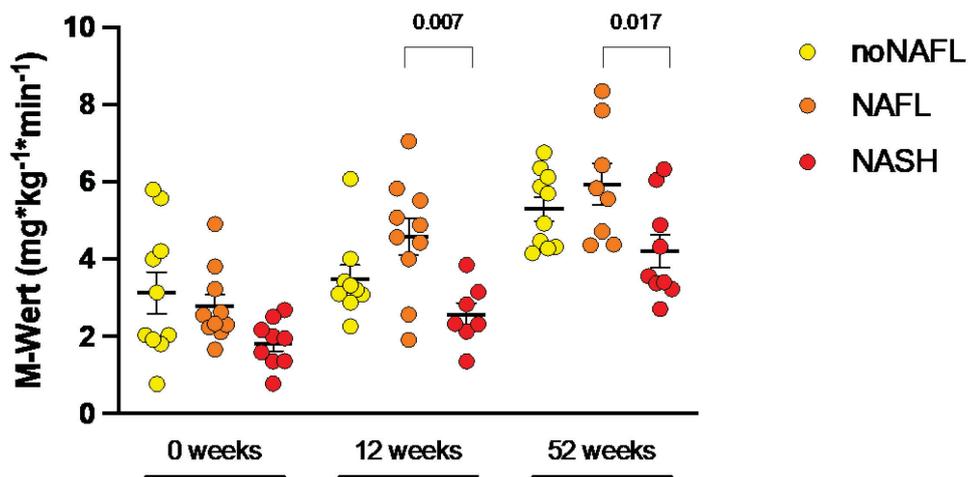


Abbildung 7: M-Wert vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: M-Wert = Ganzkörper-Insulinsensitivität

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test; $p = 0,007$ NAFL vs. NASH nach 12 Wochen; $p = 0,0017$ NAFL vs. NASH nach 52 Wochen

noNAFL: $n = 10$ nach 0 Wochen, $n = 9$ nach 12 Wochen, $n = 9$ nach 52 Wochen; NAFL: $n = 10$ nach 0 Wochen, $n = 10$ nach 12 Wochen, $n = 8$ nach 52 Wochen; NASH: $n = 9$ nach 0 Wochen, $n = 7$ nach 12 Wochen, $n = 10$ nach 52 Wochen;

3.2.8 Veränderung der Blut-Konzentration der Triglyceride und des Gesamt-Cholesterins im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

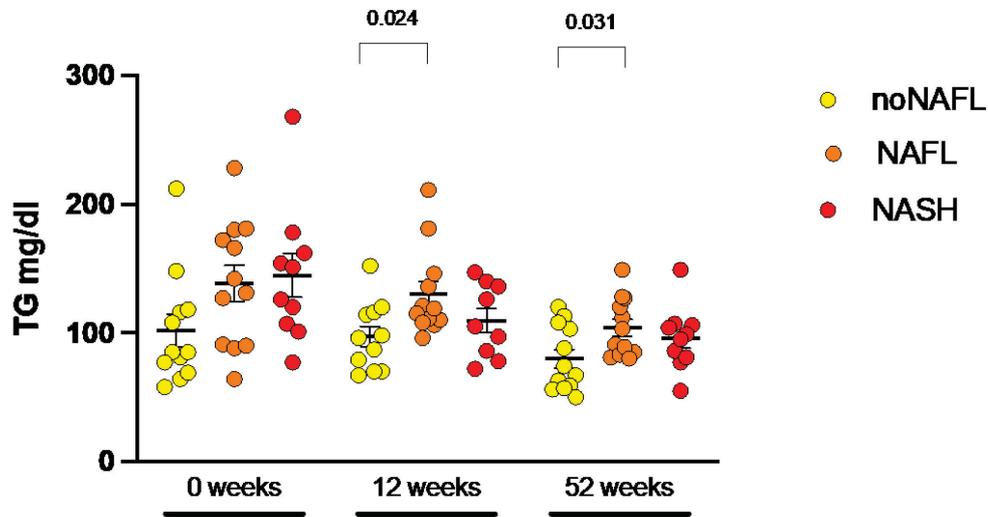


Abbildung 8: Triglycerid-Konzentrationen im Blut vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: TG = Triglyceride

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test; $p = 0,024$ noNAFL vs. NAFL nach 12 Wochen; $p = 0,031$ noNAFL vs. NAFL nach 52 Wochen

noNAFL: $n = 12$ nach 0 Wochen, $n = 11$ nach 12 Wochen, $n = 12$ nach 52 Wochen; NAFL: $n = 12$ nach 0 Wochen, $n = 12$ nach 12 Wochen, $n = 12$ nach 52 Wochen; NASH: $n = 10$ nach 0 Wochen, $n = 9$ nach 12 Wochen, $n = 10$ nach 52 Wochen

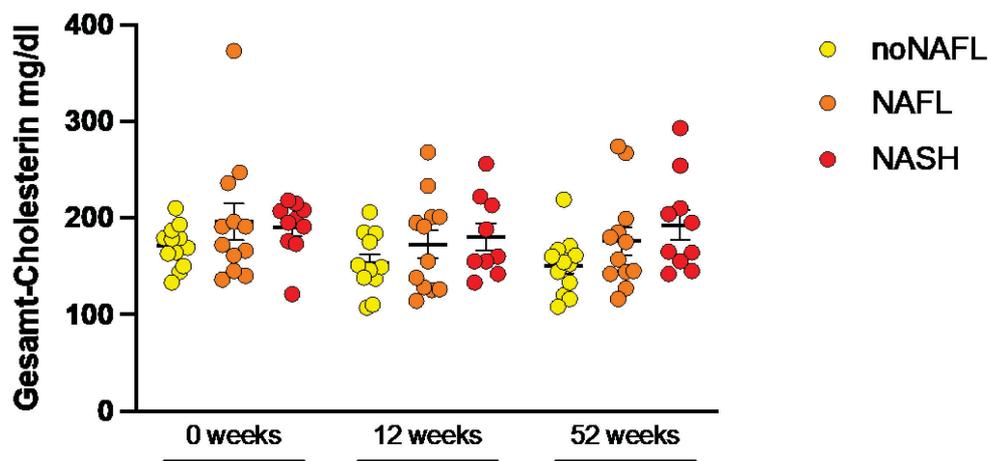


Abbildung 9: Gesamt-Cholesterin-Konzentrationen im Blut vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

noNAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 12 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 9 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen

In Abbildung 8 ist die Blut-Konzentration der Triglyceride in den Gruppen vor der Operation sowie 12 und 52 Wochen danach dargestellt. Vor der Operation ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Nach 12 und nach 52 Wochen waren niedrigere Werte in der noNAFL-Gruppe verglichen mit der NAFL-Gruppe nachweisbar ($p = 0,024$ und $p = 0,031$). In allen 3 Gruppen kam es nach 12 und 52 Wochen zu einem Rückgang der Triglycerid-Konzentration (s. Abbildung 8).

Abbildung 9 zeigt die Blut-Konzentration des Gesamt-Cholesterins zu den Zeitpunkten. Es waren zu keinem der untersuchten Zeitpunkte Unterschiede zwischen den drei Gruppen vorhanden. In der noNAFL- und der NAFL-Gruppe war nach 52 Wochen ein leichter Rückgang des Gesamt-Cholesterins zu beobachten, nicht jedoch in der NASH-Gruppe.

3.2.9 Entzündungsparameter (hsCRP-Wert) im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

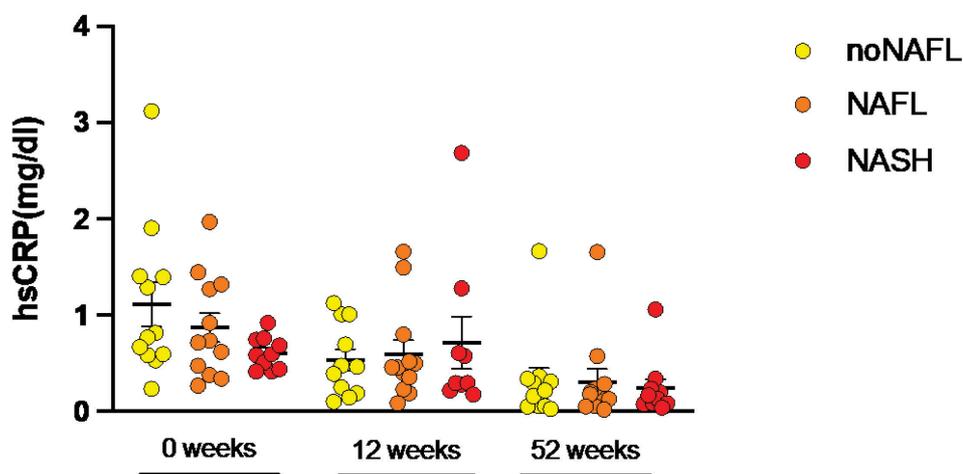


Abbildung 10: hsCRP-Wert vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: hsCRP = High Sensitive C-reactive Protein

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test, noNAFL:

n = 12 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NAFL: n = 22 nach 0 Wochen, n = 12 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen; NASH: n = 10 nach 0 Wochen, n = 9 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen

Als Maß für eine systemische (subklinische) Entzündungsreaktion wurden zudem die Konzentrationen des *High Sensitive C-reactive Protein* (hsCRP) bestimmt (s. Abbildung 10). Zu allen drei Zeitpunkten bestanden keine Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen. Verglichen mit den jeweiligen Werten vor der bariatrischen Operation ergab sich nach 12 und nach 52 Wochen in den 3 Gruppen jeweils eine Reduktion der hsCRP-Spiegel.

3.3 Veränderungen der Mitochondrienfunktion

3.3.1 Maximale gekoppelte mitochondriale Atmung ([ETF+CI+II]_P) im subkutanen Fettgewebe im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

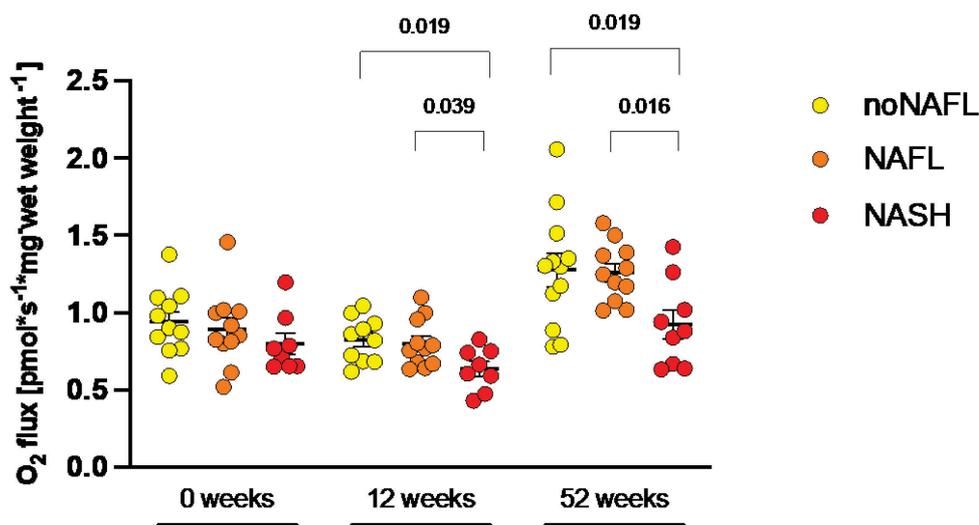


Abbildung 11: Succinat-abhängiger Sauerstofffluss (maximaler gekoppelter Sauerstofffluss), bezogen auf die Gewebemenge vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Kramer;

P = 0,019 noNAFL vs. NASH nach 12 Wochen; p = 0,039 NAFL vs. NASH nach 12 Wochen;

p = 0,019 noNAFL vs. NASH nach 52 Wochen; p = 0,016 NAFL vs. NASH nach 52 Wochen

noNAFL: n = 11 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen;

NAFL: n = 11 nach 0 Wochen, n = 11 nach 12 Wochen, n = 11 nach 52 Wochen;

NASH: n = 8 nach 0 Wochen, n = 8 nach 12 Wochen, n = 9 nach 52 Wochen

Für den maximalen gekoppelten Sauerstofffluss ($[ETF+CI+II]_P$) zeigte sich vor der Operation kein Unterschied zwischen den drei Gruppen. Dagegen war nach 12 Wochen ein niedrigerer Wert in der NASH-Gruppe verglichen mit der noNAFL- und der NAFL-Gruppe zu sehen ($p = 0,019$ und $p = 0,039$). Auch nach 52 Wochen zeigten sich niedrigere Werte in der NASH-Gruppe, verglichen mit der noNAFL- und der NAFL-Gruppe ($p = 0,019$ und $p = 0,016$). Im Vergleich mit dem Zeitpunkt vor der Operation gab es nach 52 Wochen einen Anstieg des Sauerstoffflusses in allen 3 Gruppen (35,9 % in der noNAFL-, 4 1% in der NAFL- und 15,6 % in der NASH-Gruppe).

3.3.2 Maximale entkoppelte mitochondriale Atmung ($[ETF+CI+II]_E$) im subkutanen Fettgewebe im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

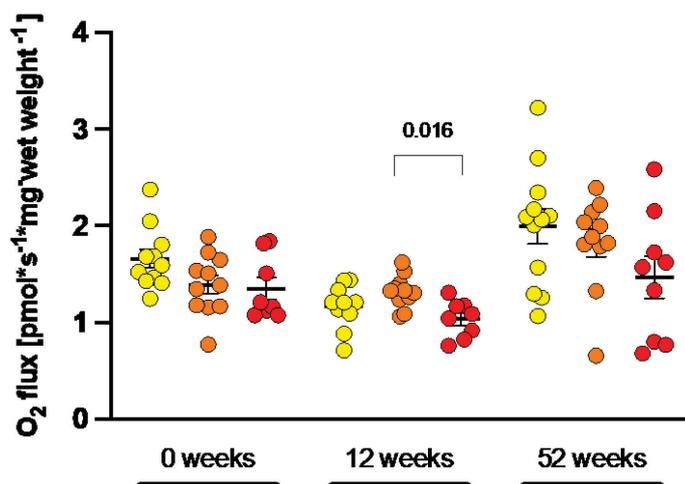


Abbildung 12: FCCP-abhängiger Sauerstofffluss, bezogen auf die Gewebemenge vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Test;

$P = 0,016$ NAFL vs. NASH nach 12 Wochen

noNAFL: $n = 11$ nach 0 Wochen, $n = 10$ nach 12 Wochen, $n = 11$ nach 52 Wochen;

NAFL: $n = 11$ nach 0 Wochen, $n = 11$ nach 12 Wochen, $n = 11$ nach 52 Wochen;

NASH: $n = 8$ nach 0 Wochen, $n = 8$ nach 12 Wochen, $n = 9$ nach 52 Wochen

Für den maximalen entkoppelten Sauerstofffluss ($[ETF+CI+II]_E$) zeigte sich nach 12 Wochen ein niedrigerer Wert in der NASH-Gruppe, verglichen mit der NAFL-Gruppe, wohingegen die Werte in den einzelnen Gruppen zu den Zeitpunkten vor der Operation wie auch nach 52 Wochen untereinander vergleichbar waren.

Verglichen mit dem Zeitpunkt vor der Operation gab es nach 52 Wochen einen Anstieg des Sauerstoffflusses in allen 3 Gruppen (20 % in der noNAFL-, 31,1 % in der NAFL- und 8,7 % in der NASH-Gruppe).

3.3.3 Surrogatparameter der Mitochondriendichte im Verlauf über 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

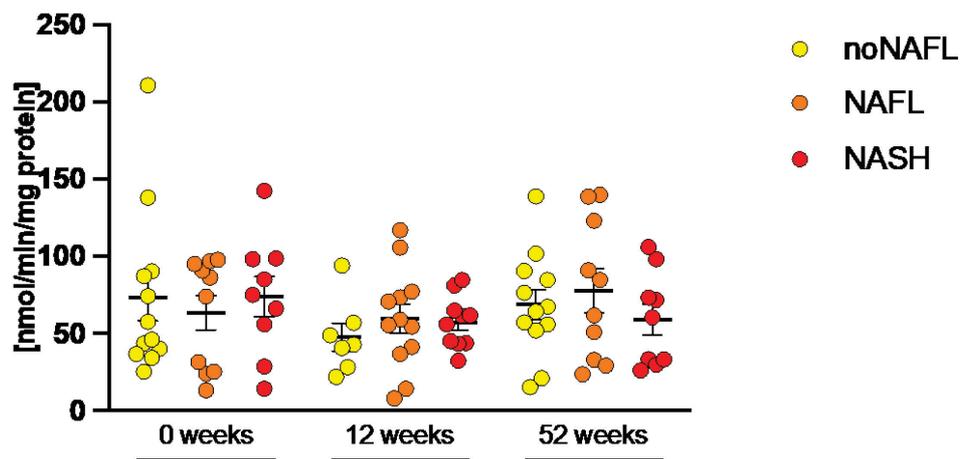


Abbildung 13: Citratsynthase-Activität (CSA) vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Kramer;

noNAFL: n = 12 nach 0 Wochen, n = 7 nach 12 Wochen, n = 12 nach 52 Wochen;

NAFL: n = 10 nach 0 Wochen, n = 12 nach 12 Wochen, n = 10 nach 52 Wochen;

NASH: n = 9 nach 0 Wochen, n = 10 nach 12 Wochen, n = 9 nach 52 Wochen

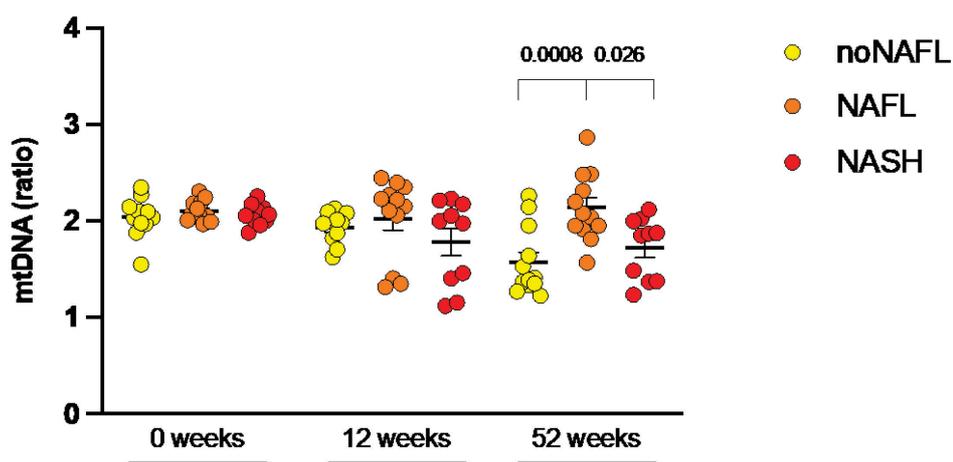


Abbildung 14: Mitochondriale DNA (mtDNA) vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Kramer; $p = 0,0008$ noNAFL vs. NAFL nach 52 Wochen; $p = 0,026$ NAFL vs. NASH nach 52 Wochen

noNAFL: $n = 12$ nach 0 Wochen, $n = 7$ nach 11 Wochen, $n = 12$ nach 52 Wochen;

NAFL: $n = 12$ nach 0 Wochen, $n = 12$ nach 12 Wochen, $n = 12$ nach 52 Wochen;

NASH: $n = 10$ nach 0 Wochen, $n = 10$ nach 12 Wochen, $n = 10$ nach 52 Wochen

Außerdem bestimmten wir die CSA sowie die mitochondriale DNA (mtDNA) als Surrogatparameter für die mitochondriale Dichte (s. Abbildungen 13 und 14).

Der CSA-Wert blieb in allen drei Gruppen zu den untersuchten Zeitpunkten ohne Unterschiede.

Bei der mtDNA gab es vor der Operation und nach 12 Wochen ebenfalls keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Nach 52 Wochen fanden sich höhere Werte in der NAFL-Gruppe verglichen mit der noNAFL- und der NASH-Gruppe ($p = 0,008$ und $p = 0,026$).

3.3.4 Inflammationsmarker im subkutanen Fettgewebe vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

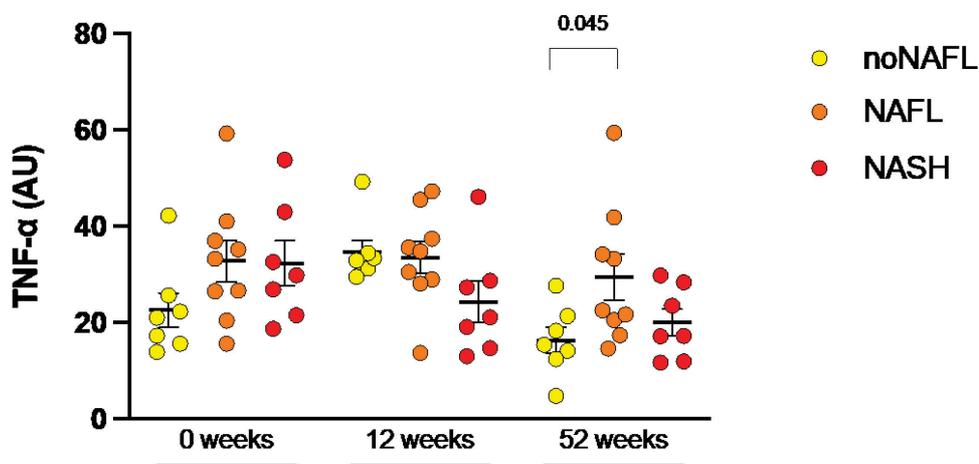


Abbildung 15: Tumornekrosefaktor- α (AU) vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: TNF- α = Tumornekrosefaktor alpha; AU = Arbitrary-Unit

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Kramer; $p = 0,045$ noNAFL vs. NAFL nach 12 Wochen;

noNAFL: $n = 7$ nach 0 Wochen, $n = 7$ nach 11 Wochen, $n = 7$ nach 52 Wochen;

NAFL: $n = 9$ nach 0 Wochen, $n = 9$ nach 12 Wochen, $n = 9$ nach 52 Wochen;

NASH: $n = 7$ nach 0 Wochen, $n = 7$ nach 12 Wochen, $n = 7$ nach 52 Wochen

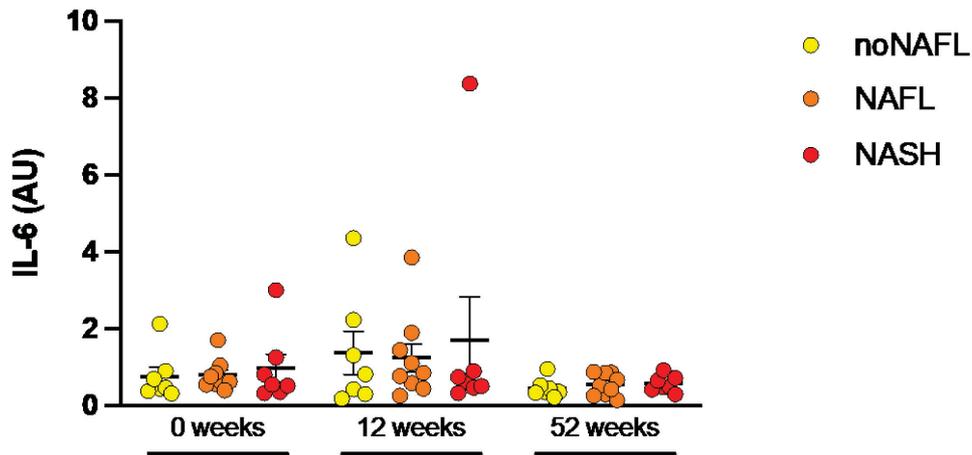


Abbildung 16: Interleukin 6 (AU) vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation

Abkürzungen: IL6= Interleukin 6; AU= Arbitrary-Unit

Daten sind log-normalverteilt, dargestellt als Mittelwert \pm Standardfehler; Vergleiche zwischen den Gruppen zu jedem Zeitpunkt mittels One-Way-ANOVA + Tukey-Kramer;

noNAFL: n = 7 nach 0 Wochen, n = 7 nach 11 Wochen, n = 7 nach 52 Wochen;

NAFL: n = 9 nach 0 Wochen, n = 9 nach 12 Wochen, n = 9 nach 52 Wochen;

NASH: n = 7 nach 0 Wochen, n = 7 nach 12 Wochen, n = 7 nach 52 Wochen

Die Abbildungen 15 und 16 zeigen die Konzentration der Zytokine TNF- α und IL-6 vor sowie 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation.

Die Konzentration von TNF- α war vor der Operation und nach 12 Wochen in allen 3 Gruppen vergleichbar. Nach 52 Wochen zeigten sich niedrigere Werte in der noNAFL-Gruppe verglichen mit der NAFL-Gruppe. Insgesamt kam es in allen 3 Gruppen nach 52 Wochen zu einem Rückgang der TNF- α -Konzentration.

Die Konzentration von IL-6 unterschied sich zu keinem der untersuchten Zeitpunkte zwischen den Gruppen. Auch hier war nach 52 Wochen eine Reduktion verglichen mit dem Ausgangswert vor der Operation in allen Gruppen zu beobachten.

3.4 Assoziation von maximaler mitochondrialer Atmung mit metabolischen Parametern

3.4.1 Assoziation der maximal gekoppelten ($[ETF+CI+II]_P$) und der maximal entkoppelten ($[ETF+CI+II]_E$) mitochondrialen Atmung mit metabolischen Parametern

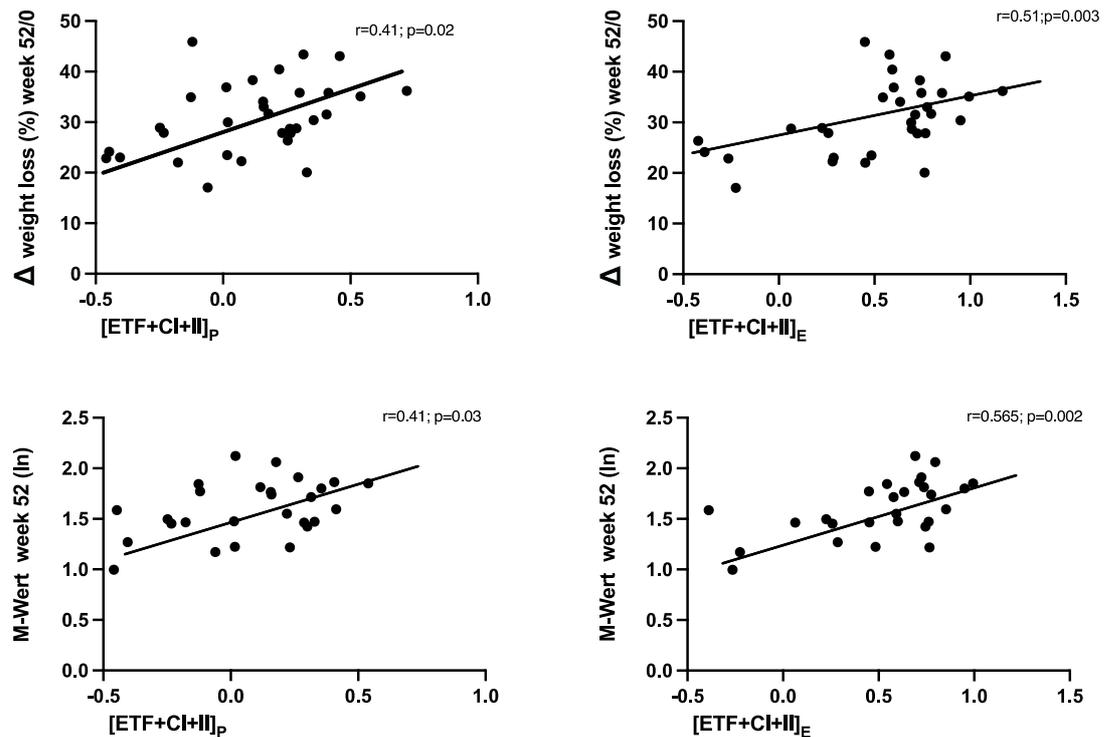


Abbildung 17: Assoziation zwischen ($[ETF+CI+II]_P$) und ($[ETF+CI+II]_E$) mit der Gewichtsabnahme in Prozent und mit dem M-Wert nach 52 Wochen

Abkürzungen: FFA = Free Fatty Acids = Freie Fettsäuren

Respirometrie-Daten, M-Wert und FFA sind log-normalverteilt; Korrelation berechnet nach Pearson

Abbildung 17 zeigt die Korrelation der maximal gekoppelten ($[ETF+CI+II]_P$) und entkoppelten ($[ETF+CI+II]_E$) mitochondrialen Atmung mit dem Gewichtsverlust von vor der Operation bis 52 Wochen danach und mit dem M-Wert. Es ergab sich eine positive Assoziation zwischen Gewichtsverlust und der maximal gekoppelten Atmung ($r = 0,41$; $p = 0,02$) sowie zwischen dem M-Wert und der maximal gekoppelten mitochondrialen Atmung ($r = 0,41$; $p = 0,03$).

Wie aus Abbildung 17 ebenfalls hervorgeht, zeigte sich eine starke positive Korrelation zwischen dem Gewichtsverlust nach 52 Wochen und der maximal

entkoppelten mitochondrialen Atmung ($r = 0,51$; $p = 0,003$) sowie zwischen dem M-Wert und der maximal entkoppelten Atmung ($r = 0,565$; $p = 0,002$).

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Diese Arbeit zeigt, dass eine bariatrische Operation bei hochgradig adipösen Personen mit einer Steigerung der maximalen gekoppelten und entkoppelten respiratorischen Kapazität im subkutanen Fettgewebe einhergeht. Der maximal gekoppelte Sauerstofffluss war bei Personen mit einer NASH vor der bariatrischen Operation nach 12 und 52 Wochen geringer als bei solchen ohne NAFLD oder mit einer einfachen Steatose. Für den maximal entkoppelten Sauerstofffluss zeigte sich nach 12 Wochen ein niedrigerer Wert in der NASH-Gruppe verglichen mit der NAFL-Gruppe. Außerdem konnte in der NASH-Gruppe ein geringerer prozentualer Gewichtsverlust als in den beiden anderen Gruppen nach 52 Wochen beobachtet werden. Zudem kam es nach der Operation zu einer Verbesserung der Ganzkörper-Insulinsensitivität. Der M-Wert war bei Personen mit einer NASH sowohl vor der Operation als auch 12 und 52 Wochen danach niedriger als bei solchen mit einer Steatose. Die Triglyceride waren bei den Probanden mit einer einfachen Steatose nach 12 und 52 Wochen höher als bei den Personen ohne NAFLD. Des Weiteren war die Konzentration von TNF- α bei Teilnehmern mit einer einfachen Steatose nach 52 Wochen höher als bei den Personen ohne Steatose. Keine kurz- oder langfristigen Unterschiede zwischen den Gruppen ergaben sich für HbA1c, Nüchtern-Blutglukose, Insulin, Cholesterin, FFA, hsCRP und IL-6.

Die mitochondriale Respiration nach 52 Wochen war mit der prozentualen Gewichtsabnahme assoziiert, aber insbesondere mit der Ganzkörper-Insulinsensitivität nach 52 Wochen. Somit hat das präoperative Vorhandensein einer NAFLD kurz- und langfristige Auswirkungen auf die Funktion des Fettgewebes, aber auch auf das Ausmaß der Gewichtsreduktion und auf die Insulinsensitivität.

4.2 Bariatrische Chirurgie zur Therapie der Adipositas

4.2.1 Einfluss der Adipositaschirurgie auf den Body-Mass-Index

Aufgrund der hochgradigen Adipositas wurde bei allen teilnehmenden Personen eine bariatrische Operation mit dem Ziel der Gewichtsreduktion durchgeführt. Bei

den Probanden kam es nach dem Eingriff im Mittel zu einer deutlichen Reduktion des Körpergewichts. Der Rückgang in der noNAFL-Gruppe lag 52 Wochen nach der Operation bei 34 %, in der NAFL-Gruppe bei 33 % und in der NASH-Gruppe bei 26 %. Hier befindet sich unsere Arbeit im Einklang mit den Ergebnissen anderer Studien, z. B. mit der von Hofsø et. al., die ein Jahr nach einer bariatrischen Operation mittels Roux-en-Y-Magenbypass oder Schlauchmagen einen durchschnittlichen Gewichtsverlust von 26 % zeigten [77].

Alternativen zur chirurgischen Gewichtsreduktion, wie diätische Maßnahmen und Lebensstilintervention, haben in den meisten Fällen nur einen kurzfristigen Effekt [78]. Mehrere Studien zeigen, dass beim Großteil der Personen spätestens drei bis fünf Jahre nach Beginn der Gewichtsabnahme wieder eine Gewichtszunahme zu beobachten war, im Mittel von ca. 3 kg im fünften Jahr [78]. Personen mit einer Gewichtsabnahme durch bariatrische Chirurgie dagegen zeigen auch bis zu 10 Jahre nach dem Eingriff noch einen konstanten Gewichtsverlust von durchschnittlich 23,2 kg bzw. 19,4 %, verglichen mit dem Ausgangsgewicht [35].

4.2.2 Einfluss der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung auf den Body-Mass-Index nach Adipositaschirurgie

Die Gewichtsabnahme in unserer Studiengruppe fand bei Personen ohne NAFLD und bei solchen mit einer NAFLD statt. Sowohl vor der bariatrischen Operation als auch 12 und 52 Wochen danach fanden sich keine Unterschiede hinsichtlich des BMI-Werts zwischen den Gruppen. In der NASH-Gruppe zeigte sich allerdings eine geringere prozentuale Abnahme 52 Wochen postoperativ im Vergleich zu den anderen beiden Gruppen. Ursächlich für den geringeren Gewichtsverlust könnte das höhere Lebensalter in der NASH-Gruppe sein. Ältere Personen verlieren nach einer bariatrischen Operation aufgrund geringerer körperlicher Aktivität und somit zunehmendem muskulären Abbau mit fortschreitendem Alter [79] weniger Gewicht [79]. Ein weiterer Grund für den geringeren Gewichtsverlust in der NASH-Gruppe könnten Unterschiede im Essverhalten darstellen, die in der BARIA-DDZ-Studie allerdings nicht erfasst wurden [80].

4.2.3 Einfluss der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung auf die glykämische Kontrolle nach Adipositaschirurgie

Die bariatrische Chirurgie führt in vielen Fällen zur Remission eines bestehenden Typ-2-Diabetes [81] [82]. Eine Untersuchung von Studien aus dem Zeitraum von 1990 bis 2012 kam zum dem Ergebnis, dass pro Kilogramm Gewichtsverlust der HbA1c-Wert um 0,1 % sinkt [83].

In unserem Studienkollektiv lag bei 8 von 34 Studienteilnehmern (23,5 %) bereits ein Typ-2-Diabetes vor. Der Anteil der Probanden mit Diabetes war in der NASH-Gruppe am größten. Folglich war auch der HbA1c-Wert in dieser Gruppe numerisch am höchsten. Auch wir konnten für alle 3 untersuchten Subgruppen 52 Wochen nach der Operation eine Abnahme der Nüchternblutglukosespiegel, des Insulinspiegels und des HbA1c beobachten.

Es besteht ein enger Zusammenhang zwischen Typ-2-Diabetes und einer NAFLD; zudem erhöht eine bestehende Diabetes-Erkrankung das Risiko für eine Progression der Fettlebererkrankung [1]. Taylor et al. untersuchten, inwieweit die Wiederherstellung einer normalen Glukosekontrolle nach einer Gewichtsabnahme Einfluss auf metabolische Parameter hatte. Sie konnten zeigen, dass eine Gewichtsabnahme unabhängig vom HbA1c-Wert zu einem Rückgang des Leber- und Pankreasfettgehalts führt. Allerdings konnte nur bei Personen, die nach der Gewichtsabnahme einen nicht diabetischen HbA1c-Wert erzielten, wieder eine normale Betazellfunktion mit adäquater glukosevermittelter Insulinabgabe erreicht werden [84]. In unserer Studiengruppe konnten wir keine Unterschiede hinsichtlich HbA1c, Insulinspiegel und Nüchtern-Blutglukose zwischen den Gruppen 12 und 52 Wochen nach der bariatrischen Operation beobachten, d. h., der Fettleberstatus vor der Operation scheint im untersuchten Studienkollektiv keinen maßgeblichen Einfluss auf die kurz- und langfristige Verbesserung der Glukosekontrolle nach einer bariatrischen Operation zu haben.

4.2.4 Einfluss der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung auf die Insulinsensitivität

Die bariatrische Chirurgie führte auch im hier untersuchten Kollektiv zu einer deutlichen Steigerung der Gesamtkörper-Insulinsensitivität, im Einklang mit der Literatur [85, 86].

Die negativen Einflüsse der NAFLD auf die Gesamtkörper-Insulinsensitivität (M-Wert) wurden in früheren Publikationen beschrieben [26, 87]. Koliaki et al. zeigten, dass bei adipösen – im Vergleich zu schlanken – Personen der M-Wert niedriger war, aber auch eine weitere Abnahme des M-Werts mit Manifestation und zunehmendem Schweregrad der NAFLD [87]. Unsere Ergebnisse bestätigen diese vorangegangenen Beobachtungen. Der M-Wert war in der NASH-Gruppe sowohl vor der bariatrischen Operation als auch 12 und 52 Wochen danach geringer als in der NAFL-Gruppe.

Die Abnahme der Insulinsensitivität bzw. die Zunahme der Insulinresistenz ist eng mit dem Vorhandensein und dem Schweregrad des metabolischen Syndroms assoziiert [87]. Auch wenn die Gesamtkörper-Insulinsensitivität nach 52 Wochen in der NASH-Gruppe weiterhin niedriger war als in beiden anderen Gruppen, war in unserem Studienkollektiv auch bei Personen mit einer NASH ein Anstieg der Insulinsensitivität zu beobachten. Ein Grund für die niedrigere Insulinsensitivität könnte die geringere nicht-oxidative Verstoffwechslung von Glukose bei Personen mit fortgeschrittener Steatose sein [88]. Die Glukosewerte sowie die FFA-Spiegel waren nach 52 Wochen verbessert und unterschieden sich nicht zwischen den Gruppen. Somit ergibt sich kein Hinweis auf einen Einfluss akuter Gluko- oder Lipotoxizität auf die geringere Insulinsensitivität der NASH-Gruppe 52 Wochen postoperativ und scheint sich in anderen Mechanismen zu begründen. In der NAFL-Gruppe waren die Triglyzeride nach 12 und 52 Wochen sogar höher als in der NASH-Gruppe – trotz höherer Insulinsensitivität in der NAFL-Gruppe im Vergleich zur NASH-Gruppe. Hinsichtlich des Gesamt-Cholesterins unterschieden sich die untersuchten Subgruppen zu keinem Zeitpunkt.

4.3 Auswirkungen der Adipositaschirurgie auf das Fettgewebe in Abhängigkeit vom Status der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung

4.3.1 Einfluss des Körpergewichts und des Glukosetoleranzstatus auf die mitochondriale Respiration und die mitochondriale Dichte des subkutanen Fettgewebes vor und nach Adipositaschirurgie

Die mitochondriale Atmungskette und die oxidative Phosphorylierung spielen eine entscheidende Rolle in der Energiegewinnung der menschlichen Zelle. Störungen dieser Prozesse in Muskel-, Leber- und Fettgewebe können bei adipösen Personen beobachtet werden [18].

Unsere sowie der Großteil der Analysen der vorhandenen Literatur, in der die mitochondriale Dichte im Gewebe untersucht wurde, basieren auf indirekten Markern wie der Anzahl der mitochondrialen DNA-Kopien (mtDNA) oder der CSA. Der Goldstandard für die Analyse der mitochondrialen Dichte ist allerdings die Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) [89]. Larsen et al. verglichen (allerdings an Muskelgewebeproben) unter anderem die mtDNA und die CSA im Vergleich zur TEM als Marker für die mitochondriale Dichte. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die CSA, nicht aber die mtDNA, als verlässlicher Marker für die mitochondriale Dichte genutzt werden kann, wenn diese mit dem Goldstandard verglichen wird [89]. In dem von uns untersuchten Kollektiv zeigten sich vor der Operation und 12 Wochen danach keine Unterschiede hinsichtlich der mtDNA. In der noNAFL- und der NASH-Gruppe kam es nach 52 Wochen zu einer Reduktion der mtDNA. In der NAFL-Gruppe war dagegen keine Reduktion zu sehen, folglich war die mtDNA nach 52 Wochen in der NAFL-Gruppe höher als in den beiden anderen Gruppen. Weniger ausgeprägt bestanden diese Veränderungen auch in Bezug auf den CSA-Wert. Hier kam es in der noNAFL- und der NASH-Gruppe zu einer Reduktion nach 52 Wochen, in der NAFL-Gruppe dagegen zu einem Anstieg.

Als Methode zur Untersuchung der mitochondrialen Funktion bzw. Respiration hat sich die hochauflösende Respirometrie etabliert [90].

Yin et al. untersuchten damit isolierte Mitochondrien von adipösen und nicht adipösen Personen aus subkutanem und omentalem Fettgewebe. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die maximale Kapazität des OXPHOS-Systems des

omentalen und subkutanen Fettgewebes bei adipösen Personen erniedrigt ist [23]. Auch Pedersen et al. konnten an subkutanen und viszeralen Fettgewebeproben einen reduzierten maximalen Elektronentransfer-Zustand (E) und eine Erniedrigung der maximalen Kapazität des OXPHOS-Systems bei adipösen Personen (im Vergleich zu Normalgewichtigen) mittels hochauflösender Respirometrie nachweisen [2].

Hansen et al. untersuchten die Veränderungen der mitochondrialen Kapazität nach chirurgischer Gewichtsreduktion (Roux-en-Y-Magenbypass). Sie analysierten Proben aus subkutanem Fettgewebe von adipösen Personen mit und ohne Typ-2-Diabetes mittels hochauflösender Respirometrie im Zeitverlauf vor und nach einer Gewichtsabnahme durch eine bariatrische Operation. Die Forscher konnten zeigen, dass die mitochondriale Respiration (maximale entkoppelte Kapazität des OXPHOS-Systems nach Zugabe von FCCP) 18 Monate nach der bariatrischen Operation zunahm. Es waren keine Unterschiede zwischen Personen mit und ohne Typ-2-Diabetes festzustellen. Wenn die mitochondriale Respiration allerdings auf die mtDNA normiert wurde, zeigte sich nach der Gewichtsabnahme kein Unterschied im Vergleich zu den präoperativen Werten. Hansen et al. kamen daher zu dem Ergebnis, dass es nach der Gewichtsabnahme durch eine bariatrische Operation zu einer Erholung der mitochondrialen Funktion des Fettgewebes kam. Diese Erholung war aber nicht auf eine erhöhte mitochondriale Kapazität der einzelnen Zelle zurückzuführen, sondern auf eine erhöhte Anzahl von Adipozyten pro Milligramm Fettgewebe nach der Gewichtsreduktion [3].

Zusammenfassend lässt sich aus den bisherigen Studien zur mitochondrialen Respiration im Fettgewebe ableiten, dass die mitochondriale Respiration des subkutanen Fettgewebes bei von Adipositas betroffenen Personen erniedrigt ist. Eine Gewichtsabnahme kann diese jedoch wieder steigern (s. Tabelle 5).

Autor	Gewebe	Hochauflösende Respirometrie – gemessene Parameter	Mitochondriale Respiration
Schöttl, T. et al. (2015). [22]	Isolierte Mitochondrien, intaktes subkutanes und intrabdominelles	- maximale Kapazität des OXPHOS-Systems - maximaler Elektronentransfer-Zustand -LEAK-Zustand	Reduziert bei Adipositas ↓

	Fettgewebe von Mäusen		
Yin, X. et al. (2014).	Isolierte Mitochondrien aus subkutanem und omentalem Fettgewebe	- maximale Kapazität des OXPHOS-Systems	Reduziert bei Adipositas ↓
Hansen, M. et al. (2015).	Intaktes subkutanes Fettgewebe	- maximale Kapazität des OXPHOS-Systems - maximaler Elektronentransfer-Zustand	Anstieg nach Gewichtsabnahme ↑
Pedersen, J. et al. (2022)	Subkutanes und viszerales Fettgewebe	- maximale Kapazität des OXPHOS-Systems - maximaler Elektronentransfer-Zustand -LEAK-Zustand	Reduziert bei Adipositas ↓

Tabelle 5: Übersicht über Arbeiten zur mitochondrialen Aktivität der Adipozyten

Da unsere Studienteilnehmer vor der bariatrischen Operation alle adipös waren und keine normalgewichtige Kontrollgruppe als Referenzkollektiv vorhanden war, konnten wir nicht vergleichen, ob bei unseren adipösen Studienteilnehmern vor der Operation ebenfalls eine Reduktion der mitochondrialen Atmung im Vergleich zu normalgewichtigen, stoffwechselgesunden Personen vorlag. Wir untersuchten allerdings die mitochondriale Atmung (maximal gekoppelte Respiration nach Zugabe von Succinat, maximal entkoppelte Respiration nach Zugabe von FCCP) des subkutanen Fettgewebes der Studienteilnehmer im Zeitverlauf (vor der bariatrischen Operation sowie 12 Wochen und ein Jahr später), als bei allen Personen eine Gewichtsabnahme eingetreten war. Insgesamt konnten wir die Ergebnisse der vorherigen Arbeiten bestätigen. Wie Hansen et al. sahen wir bei allen Probanden einen Anstieg des Sauerstoffflusses und damit der mitochondrialen Respiration. Dieser zeigte sich sowohl nach Zugabe von Succinat zum Erreichen der maximalen Kapazität des OXPHOS-Systems als auch nach Zugabe von FCCP, also dem maximalen Elektronentransferzustand. Dabei ergab sich eine positive Korrelation zwischen der prozentualen Gewichtsabnahme nach 52 Wochen und dem Anstieg der mitochondrialen Respiration.

Es existieren verschiedene Theorien, die erklären könnten, wieso bei adipösen Personen die mitochondriale Respiration beeinträchtigt ist. Das Überangebot von Substraten bei Personen mit Adipositas könnte zu einer Überladung der Atmungskette führen. Als Reaktion auf diese Überladung kann der

Elektronentransfer nicht mehr normal ablaufen, es kommt zur Entkopplung von Elektronentransfer und ATP-Synthese, wobei vermehrt ROS entstehen, die die Mitochondrien schädigen. Zudem produziert das Fettgewebe bei Adipositas vermehrt proinflammatorische Zytokine, die ebenfalls zu einer Schädigung der Mitochondrien führen können [23].

Die Schädigung der Mitochondrien bei Personen mit Adipositas betrifft jedoch nicht nur das Fettgewebe. Bakkman et al. konnten nachweisen, dass auch die mitochondriale Kapazität im Skelettmuskel von adipösen Personen erniedrigt ist [91]. Andere Arbeiten zur mitochondrialen Kapazität des Skelettmuskels ergeben Hinweise darauf, dass sich diese bei adipösen Personen nach einer deutlichen Gewichtsabnahme durch eine bariatrische Operation wieder erhöht [92-94], auch wenn die Studienlage hier nicht eindeutig ist [63].

4.3.2 Mitochondriale Atmung des subkutanen Fettgewebes vor und nach Adipositaschirurgie in Abhängigkeit vom Status der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung

Wir untersuchten als Erste, inwieweit der präoperative NAFLD-Status die mitochondriale Respiration des subkutanen Fettgewebes nach einer bariatrischen Chirurgie beeinflusst.

Zum Operationszeitpunkt zeigten sich keine größeren Unterschiede der mitochondrialen Respiration im subkutanen Fettgewebe zwischen den drei Subgruppen. Es kam 52 Wochen nach der bariatrischen Operation in allen 3 untersuchten Subgruppen zu einem Anstieg der mitochondrialen Respiration. Dies betraf sowohl die maximale gekoppelte Respiration nach Zugabe von Succinat ($[ETF+CI+II]_P$) als auch die maximal ungekoppelte Respiration nach Zugabe von FCCP ($[ETF+CI+II]_E$). In beiden Fällen fiel der prozentuale Anstieg in der NASH-Gruppe am geringsten aus. Nach 12 und 52 Wochen zeigte sich eine deutlich niedrigere maximale gekoppelte Respiration in der NASH-Gruppe, verglichen mit den beiden anderen Gruppen. Wenn auch nicht so deutlich war dies auch für die maximal ungekoppelte Respiration zu beobachten.

Pedersen et al. untersuchten ebenfalls die mitochondriale Respiration (maximale Kapazität des OXPHOS-Systems, maximaler ETS) aus subkutanen Fettgewebeproben bei adipösen Personen mit und ohne NAFLD nach bariatrischer Operation. Allerdings erfolgte die Analyse der mitochondrialen

Kapazität der Fettgewebsproben nur zum Zeitpunkt der bariatrischen Operation. Sie fanden eine Reduktion der mitochondrialen Kapazität bei adipösen Personen im Vergleich mit einer normalgewichtigen Kontrollgruppe. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen konnten sie zu dem Zeitpunkt der Operation jedoch keine Unterschiede zwischen den Gruppen mit NAFL bzw. NASH und ohne NAFLD feststellen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Reduktion in der mitochondrialen Respiration auf die Adipositas und nicht auf den NAFLD-Status der Teilnehmer zurückzuführen war [2]. Pafili et al. untersuchten die mitochondriale Respiration (maximale Kapazität des OXPHOS-Systems, maximaler ETS) in subkutanen und viszeralen Fettgewebsproben von adipösen Personen mit und ohne NAFLD. Auch sie konnten keine Unterschiede der mitochondrialen Respiration des subkutanen Fettgewebes bei Personen mit und ohne NAFLD feststellen [61]. Da sowohl in der Arbeit von Pedersen et al. als auch in der von Pafili et al. keine weitere Untersuchung zu einem postoperativen Zeitpunkt erfolgte, kann nicht ermittelt werden, ob es auch hier bei adipösen Personen mit einer NASH zu einem geringeren Anstieg der mitochondrialen Respiration nach Gewichtsabnahme im Vergleich zu Personen mit NAFL oder ohne NAFL kam.

Koliaki et al. wiesen nach, dass die mitochondriale Respiration im Lebergewebe (maximale Kapazität des OXPHOS-Systems, maximaler ETS) bei adipösen Personen mit und ohne NAFL im Vergleich zu Normalgewichtigen erhöht war [87]. Bei Personen mit einer NASH dagegen kam es zu einer Reduktion der mitochondrialen Respiration. Die Forscher kamen zu dem Schluss, dass die Mitochondrien in der Leber bei den Personen ohne NASH auf die erhöhte Zufuhr von Substrat (insbesondere von FFA) zunächst mit einer Erhöhung der oxidativen Kapazität reagieren und somit die vermehrte Substratverfügbarkeit kompensieren können. Da bei Personen mit einer NASH die Energiegewinnung über die Atmungskette trotz erhöhter Aktivität durch einen hohen Protonen-Leak teilweise entkoppelt ist, kommt es zu einem erhöhten Auftreten von ROS, die dann zu Schädigungen der Mitochondrien bzw. der Leberzellen, zu einer Reduktion der mitochondrialen Respiration und somit zu einem Fortschreiten der Fettlebererkrankung bei Personen mit einer NASH führen können [87]. Die übermäßige Substratverfügbarkeit und die vermehrt auftretenden ROS könnten

auch in den Mitochondrien des subkutanen Fettgewebes einen pathophysiologischen Mechanismus für eine Mitochondrienschädigung darstellen und somit eine Erklärung für die geringere Verbesserung der mitochondrialen Respiration bei Personen mit einer NASH sein.

4.3.3 Inflammation des Fettgewebes und Zusammenhang mit der systemischen subklinischen Inflammation vor und nach Adipositaschirurgie in Abhängigkeit vom Status der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung

Insbesondere das viszerale und das ektope Fettgewebe produzieren proinflammatorische Zytokine [95]. Dies führt bei Adipositas oftmals zu einer systemischen, subklinischen Entzündungsreaktion und trägt zur Entstehung und Progression der Insulinresistenz bei [13]. Eine Gewichtsabnahme durch eine bariatrische Operation kann zu einem Rückgang der systemischen Entzündungsreaktion und der proinflammatorischen Zytokine führen [96]. Auch wir konnten diese Ergebnisse bestätigen. In allen 3 Gruppen war 52 Wochen nach der bariatrischen Operation ein Rückgang der proinflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6 zu beobachten.

Da das Vorliegen einer NAFLD mit einer systemischen Inflammation vergesellschaftet ist, würden wir höhere IL6- und TNF- α -Spiegel mit Fortschreiten der NAFLD erwarten [97]. Allerdings sahen wir zum Zeitpunkt vor der bariatrischen Operation sowie 12 und 52 Wochen danach keine Unterschiede hinsichtlich der IL6-Spiegel im subkutanen Fettgewebe zwischen den Gruppen. Hier ist unsere Arbeit im Einklang mit den Ergebnissen von Pafili et al., die ebenfalls keine Unterschiede hinsichtlich der IL-6-Spiegel im subkutanen Fettgewebe zwischen Personen mit und ohne NAFLD feststellen konnten. Allerdings wurden in dieser Arbeit keine weiteren Bestimmungen nach der bariatrischen Operation durchgeführt [61].

Die TNF- α -Spiegel waren vor der Operation und 12 Wochen danach ohne Unterschiede zwischen den Gruppen. Auch hier ist das Ergebnis im Einklang mit der Arbeit von Pafili et al., die vor der bariatrischen Operation keine Unterschiede des TNF- α -Spiegels im subkutanen Fettgewebe feststellen konnten [61]. Entgegen unserer Erwartungen waren die TNF- α -Spiegel 52 Wochen nach der Operation in der NAFL- und nicht in der NASH-Gruppe am höchsten.

Viele Studien konnten zudem zeigen, dass eine Gewichtsabnahme durch Lebensstilintervention oder durch eine bariatrische Operation zu einer Reduktion des CRP-Wertes führt [95]. Auch wir konnten bestätigen, dass es nach einer Gewichtsabnahme durch eine bariatrische Operation zu einer Reduktion des hsCRP-Wertes kam. Auch hier konnten wir weder vor der Operation noch 12 und 52 Wochen danach einen Unterschied zwischen Personen mit und solchen ohne eine NAFLD feststellen. Diesbezüglich unterscheiden sich unsere Ergebnisse von denen aus der Arbeit von Pedersen et al., die zum Zeitpunkt der bariatrischen Operation höhere CRP-Werte in der Gruppe der Personen mit NAFLD, verglichen mit Personen ohne NAFLD, nachweisen konnten. In unserem Studienkollektiv führte die Gewichtsabnahme daher unabhängig vom Fettleiberstatus der Studienteilnehmer zu einem Rückgang des CRP-Wertes.

4.4 Schlussfolgerung

Die bariatrische Operation ging mit einer Verbesserung der mitochondrialen Respiration im subkutanen Fettgewebe bei Personen mit und ohne NAFLD einher. Bei Personen mit NASH war die mitochondriale Kapazität postoperativ geringer im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen. Auch die postoperative Insulinsensitivität im Untersuchungszeitraum von einem Jahr war niedriger als in der NAFL Gruppe.

Daher sollten präventive Ansätze entwickelt werden, die frühzeitig der Entstehung einer NAFLD bei Personen mit Adipositas entgegenwirken. Es gilt insbesondere, auch pharmakologische Therapiekonzepte für die Behandlung einer NAFLD zu entwickeln, da bislang kein in der Indikation der NAFLD zugelassenes Medikament zur Verfügung steht.

5 Limitationen dieser Arbeit

Da diese Arbeit als Pilotstudie geplant wurde, war die Stichprobe mit 34 Teilnehmern relativ klein. Zudem war der Großteil weiblich, daher sind geschlechtsspezifische Unterschiede nicht auszuschließen. Außerdem waren alle Studienteilnehmer vor der bariatrischen Operation hochgradig adipös und es stand keine normalgewichtige Kontrollgruppe zur Verfügung. Wir untersuchten allerdings die Studienteilnehmer im Zeitverlauf (vor der bariatrischen Operation sowie 12 Wochen und ein Jahr später) und konnten so die Veränderungen in der mitochondrialen Kapazität des Fettgewebes zwischen den Gruppen von Personen mit Adipositas mit und ohne NAFLD vergleichen.

6 Literaturverzeichnis

1. Younossi, Z.M., et al., *Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes*. *Hepatology*, 2016. **64**(1): p. 73-84.
2. Pedersen, J.S., et al., *Influence of NAFLD and bariatric surgery on hepatic and adipose tissue mitochondrial biogenesis and respiration*. *Nat Commun*, 2022. **13**(1): p. 2931.
3. Hansen, M., et al., *Adipose tissue mitochondrial respiration and lipolysis before and after a weight loss by diet and RYGB*. *Obesity*, 2015. **23**(10): p. 2022-2029.
4. Hauner, H., et al., *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur „Prävention und Therapie der Adipositas“*. *Adipositas-Ursachen, Folgeerkrankungen, Therapie*, 2014. **8**(04): p. 179-221.
5. Alberti, K.G., P. Zimmet, and J. Shaw, *Metabolic syndrome--a new worldwide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation*. *Diabet Med*, 2006. **23**(5): p. 469-80.
6. Branca F, Nikogosian H, Lobstein T. *Die Herausforderung Adipositas und Strategien zu ihrer Bekämpfung in der Europäischen Region der WHO: Zusammenfassung*. Genf: World Health Organization; 2007.
7. World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation on obesity*, Geneva, 3-5 June 1997. Genf: World Health Organization; 1997.
8. World Health Organization. *Obesity and overweight* [Internet]. 2021 [zitiert 6. September 2021]. Verfügbar unter: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
9. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. *Body-Mass-Index (im Durchschnitt und Verteilung der Bevölkerung auf Body-Mass-Index-Gruppen (in Prozent)). Gliederungsmerkmale: Jahre, Deutschland, Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index* [Internet]. 2017 [zitiert 7. Januar 2021]. Verfügbar unter: https://www.gbe-bund.de/gbe/!pkg_olap_tables.prc_set_page?p_uid=gastd&p_aid=56478713&p_sprache=D&p_help=2&p_indnr=434&p_ansnr=59444625&p_version=9&D.000=3739&D.003=42.
10. Tappy, L. and K.A. Lê, *Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity*. *Physiol Rev*, 2010. **90**(1): p. 23-46.
11. Heymsfield, S.B. and T.A. Wadden, *Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity*. *New England Journal of Medicine*, 2017. **376**(3): p. 254-266.
12. Song, Z., A.M. Xiaoli, and F. Yang, *Regulation and Metabolic Significance of De Novo Lipogenesis in Adipose Tissues*. *Nutrients*, 2018. **10**(10).
13. Stefan, N., *Causes, consequences, and treatment of metabolically unhealthy fat distribution*. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2020. **8**(7): p. 616-627.
14. Norton, L., C. Shannon, A. Gastaldelli, and R.A. DeFronzo, *Insulin: The master regulator of glucose metabolism*. *Metabolism*, 2022. **129**: p. 155142.
15. Ibrahim, M.M., *Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences*. *Obesity Reviews*, 2010. **11**(1): p. 11-18.

16. Jensen, M.D., *Visceral Fat: Culprit or Canary?* Endocrinology and Metabolism Clinics of North America, 2020. **49**(2): p. 229-237.
17. Armstrong, M.J., et al., *Abdominal subcutaneous adipose tissue insulin resistance and lipolysis in patients with non-alcoholic steatohepatitis.* Diabetes, Obesity and Metabolism, 2014. **16**(7): p. 651-660.
18. Heinonen, S., et al., *Impaired Mitochondrial Biogenesis in Adipose Tissue in Acquired Obesity.* Diabetes, 2015. **64**(9): p. 3135-45.
19. Pessayre, D. and B. Fromenty, *NASH: a mitochondrial disease.* Journal of hepatology, 2005. **42**(6): p. 928-940.
20. Brandt, U., *Mitochondrien – Organellen der ATP-Gewinnung,* in *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*, P.C. Heinrich, M. Müller, and L. Graeve, Editors. 2014, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. p. 235-251.
21. Lee, J.H., et al., *The Role of Adipose Tissue Mitochondria: Regulation of Mitochondrial Function for the Treatment of Metabolic Diseases.* International Journal of Molecular Sciences, 2019. **20**(19): p. 4924.
22. Schöttl, T., L. Kappler, T. Fromme, and M. Klingenspor, *Limited OXPHOS capacity in white adipocytes is a hallmark of obesity in laboratory mice irrespective of the glucose tolerance status.* Molecular Metabolism, 2015. **4**(9): p. 631-642.
23. Yin, X., et al., *Adipocyte Mitochondrial Function Is Reduced in Human Obesity Independent of Fat Cell Size.* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 2014. **99**(2): p. E209-E216.
24. Koh, E.H., et al., *Essential Role of Mitochondrial Function in Adiponectin Synthesis in Adipocytes.* Diabetes, 2007. **56**(12): p. 2973-2981.
25. Lemoine, M., et al., *Serum adipokine levels predictive of liver injury in non-alcoholic fatty liver disease.* Liver Int, 2009. **29**(9): p. 1431-8.
26. Roden, M., *Mechanisms of Disease: hepatic steatosis in type 2 diabetes—pathogenesis and clinical relevance.* Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism, 2006. **2**(6): p. 335-348.
27. Leitner, D.R., et al., *Obesity and Type 2 Diabetes: Two Diseases with a Need for Combined Treatment Strategies - EASO Can Lead the Way.* Obes Facts, 2017. **10**(5): p. 483-492.
28. Christou, G.A., et al., *Semaglutide as a promising antiobesity drug.* Obes Rev, 2019. **20**(6): p. 805-815.
29. European Medicines Agency. Wegovy [Internet]. 2022 [zitiert 13. November 2022]. Verfügbar unter: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/wegovy>.
30. Rubino, D.M., et al., *Effect of Weekly Subcutaneous Semaglutide vs Daily Liraglutide on Body Weight in Adults With Overweight or Obesity Without Diabetes: The STEP 8 Randomized Clinical Trial.* JAMA, 2022. **327**(2): p. 138-150.
31. Wilding, J.P.H., et al., *Once-Weekly Semaglutide in Adults with Overweight or Obesity.* New England Journal of Medicine, 2021. **384**(11): p. 989-1002.
32. Davies, M., et al., *Semaglutide 2· 4 mg once a week in adults with overweight or obesity, and type 2 diabetes (STEP 2): a randomised, double-blind, double-dummy, placebo-controlled, phase 3 trial.* The Lancet, 2021. **397**(10278): p. 971-984.

33. Deutsche Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie e.V. S3-Leitlinie: Chirurgie der Adipositas und metabolischer Erkrankungen. 2018 [Internet]. 2022 [zitiert 23. Oktober 2021]. Verfügbar unter: https://register.awmf.org/assets/guidelines/088-001m_S3_Chirurgie-Adipositas-metabolische-Erkrankungen_2018-02-abgelaufen.pdf.
34. Semlitsch, T., et al., *Management of overweight and obesity in primary care—A systematic overview of international evidence-based guidelines*. Obesity Reviews, 2019. **20**(9): p. 1218-1230.
35. O'Brien, P.E., et al., *Long-Term Outcomes After Bariatric Surgery: a Systematic Review and Meta-analysis of Weight Loss at 10 or More Years for All Bariatric Procedures and a Single-Centre Review of 20-Year Outcomes After Adjustable Gastric Banding*. Obesity surgery, 2019. **29**(1): p. 3-14.
36. Sheng, B., et al., *The long-term effects of bariatric surgery on type 2 diabetes remission, microvascular and macrovascular complications, and mortality: a systematic review and meta-analysis*. Obesity surgery, 2017. **27**(10): p. 2724-2732.
37. Elder, K.A. and B.M. Wolfe, *Bariatric surgery: a review of procedures and outcomes*. Gastroenterology, 2007. **132**(6): p. 2253-2271.
38. Powell, E.E., V.W. Wong, and M. Rinella, *Non-alcoholic fatty liver disease*. Lancet, 2021. **397**(10290): p. 2212-2224.
39. Sanyal, A.J., et al., *Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease*. New England Journal of Medicine, 2021. **385**(17): p. 1559-1569.
40. *EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease*. Journal of Hepatology, 2016. **64**(6): p. 1388-1402.
41. Tannapfel, A., et al., *Histopathological diagnosis of non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease*. Virchows Archiv, 2011. **458**(5): p. 511-523.
42. Wong, T., R.J. Wong, and R.G. Gish, *Diagnostic and treatment implications of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis*. Gastroenterology & hepatology, 2019. **15**(2): p. 83.
43. Rinella, M.E., et al., *A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature*. J Hepatol, 2023.
44. Villeret, F., J. Dumortier, and D. Erard-Poinsot, *How will NAFLD change the liver transplant landscape in the 2020s?* Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology, 2022. **46**(1): p. 101759.
45. Talaieva TV. *EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease*. J Hepatol, 2016; **64**(6):1388-402
46. Papatheodoridi, M. and E. Cholongitas, *Diagnosis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): current concepts*. Current pharmaceutical design, 2018. **24**(38): p. 4574-4586.
47. Chi, H., et al., *Multiple biopsy passes and the risk of complications of percutaneous liver biopsy*. European journal of gastroenterology & hepatology, 2017. **29**(1): p. 36-41.
48. Roeb, E., et al., *Aktualisierte S2k-Leitlinie nicht-alkoholische Fettlebererkrankung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) – April 2022 – AWMF-Registernummer: 021–025*. Z Gastroenterol, 2022. **60**(09): p. 1346-1421.

49. Lee, J., et al., *Prognostic accuracy of FIB-4, NAFLD fibrosis score and APRI for NAFLD-related events: A systematic review*. Liver International, 2021. **41**(2): p. 261-270.
50. Nouredin, M., et al., *Utility of magnetic resonance imaging versus histology for quantifying changes in liver fat in nonalcoholic fatty liver disease trials*. Hepatology, 2013. **58**(6): p. 1930-1940.
51. Dewidar, B., S. Kahl, K. Pafili, and M. Roden, *Metabolic liver disease in diabetes - From mechanisms to clinical trials*. Metabolism, 2020. **111s**: p. 154299.
52. Davison, B.A., et al., *Suboptimal reliability of liver biopsy evaluation has implications for randomized clinical trials*. Journal of Hepatology, 2020. **73**(6): p. 1322-1332.
53. Pafili, K. and M. Roden, *Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) from pathogenesis to treatment concepts in humans*. Molecular Metabolism, 2020: p. 101122.
54. Mantovani, A., C.D. Byrne, E. Bonora, and G. Targher, *Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Risk of Incident Type 2 Diabetes: A Meta-analysis*. Diabetes Care, 2018. **41**(2): p. 372-382.
55. Donnelly, K.L., et al., *Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease*. J Clin Invest, 2005. **115**(5): p. 1343-51.
56. Pafili, K. and M. Roden, *Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) from pathogenesis to treatment concepts in humans*. Molecular Metabolism, 2021. **50**: p. 101122.
57. Iozzo, P., et al., *Fatty Acid Metabolism in the Liver, Measured by Positron Emission Tomography, Is Increased in Obese Individuals*. Gastroenterology, 2010. **139**(3): p. 846-856.e6.
58. Satapati, S., et al., *Mitochondrial metabolism mediates oxidative stress and inflammation in fatty liver*. The Journal of clinical investigation, 2015. **125**(12): p. 4447-4462.
59. Pessayre, D., B. Fromenty, and A. Mansouri, *Mitochondrial injury in steatohepatitis*. European journal of gastroenterology & hepatology, 2004. **16**(11): p. 1095-1105.
60. Pérez-Carreras, M., et al., *Defective hepatic mitochondrial respiratory chain in patients with nonalcoholic steatohepatitis*. Hepatology, 2003. **38**(4): p. 999-1007.
61. Pafili, K., et al., *Mitochondrial respiration is decreased in visceral but not subcutaneous adipose tissue in obese individuals with fatty liver disease*. Journal of Hepatology, 2022. **77**(6): p. 1504-1514.
62. DeFronzo, R.A., J.D. Tobin, and R. Andres, *Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance*. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 1979. **237**(3): p. E214.
63. Gancheva, S., et al., *Dynamic changes of muscle insulin sensitivity after metabolic surgery*. Nature Communications, 2019. **10**(1): p. 4179.
64. Mattar, J.A., *A Simple Calculation to Estimate Body Surface Area in Adults and Its Correlation with the Du Bois Formula*. Critical Care Medicine, 1989. **17**(8): p. 846.
65. Nowotny, B., et al., *Mechanisms Underlying the Onset of Oral Lipid-Induced Skeletal Muscle Insulin Resistance in Humans*. Diabetes, 2013. **62**(7): p. 2240-2248.

66. Jelenik, T., et al., *Mechanisms of Insulin Resistance in Primary and Secondary Nonalcoholic Fatty Liver*. *Diabetes*, 2017. **66**(8): p. 2241-2253.
67. López-Lluch, G., et al., *Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006. **103**(6): p. 1768-1773.
68. Wiegand, G. and S.J. Remington, *Citrate synthase: structure, control, and mechanism*. *Annual review of biophysics and biophysical chemistry*, 1986. **15**(1): p. 97-117.
69. Morgunov, I. and P.A. Srere, *Interaction between citrate synthase and malate dehydrogenase: substrate channeling of oxaloacetate*. *Journal of Biological Chemistry*, 1998. **273**(45): p. 29540-29544.
70. Srere, P., *EC 4.1. 3.7, citrate oxaloacetate-lyase (CoA-acetylating)*. *Methods Enzymol*, 1969. **1969**: p. 3-11.
71. Yan, C., et al., *Mitochondrial DNA: Distribution, Mutations, and Elimination*. *Cells*, 2019. **8**(4).
72. Gnaiger, E., *The Oxygraph for High-Resolution Respirometry*. *Mitochondrial Physiology Network 6.1*: 1-19 (2001, 2006).
73. Frese, J., et al., *High-resolution respirometry for assessment of mitochondrial function in peripheral artery disease*. *Gefäßchirurgie*, 2020. **25**: p. 226-231.
74. Brandt, U., *Mitochondrien–Organellen der ATP-Gewinnung*, in *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. 2014, Springer. p. 235-251.
75. Chance, B. and G. Williams, *The respiratory chain and oxidative phosphorylation*. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, 1956. **17**: p. 65-134.
76. Deklaration von Helsinki, (2013) Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen.[Internet]. [zitiert 02.05 2023]. Verfügbar unter: https://www.infofueraerzte.at/fileadmin/user_upload/pdfs/news/Deklaration_Helsinki_2014_EV.pdf
77. Hofsø, D., et al., *Gastric bypass versus sleeve gastrectomy in patients with type 2 diabetes (Oseberg): a single-centre, triple-blind, randomised controlled trial*. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2019. **7**(12): p. 912-924.
78. Safer, D.J., *Diet, behavior modification, and exercise: a review of obesity treatments from a long-term perspective*. *Southern medical journal*, 1991. **84**(12): p. 1470-1474.
79. Contreras, J.E., C. Santander, I. Court, and J. Bravo, *Correlation Between Age and Weight Loss after Bariatric Surgery*. *Obesity Surgery*, 2013. **23**(8): p. 1286-1289.
80. Wolfe, B.M., E. Kvach, and R.H. Eckel, *Treatment of Obesity: Weight Loss and Bariatric Surgery*. *Circulation research*, 2016. **118**(11): p. 1844-1855.
81. Puzziferri, N., et al., *Long-term follow-up after bariatric surgery: a systematic review*. *Jama*, 2014. **312**(9): p. 934-942.
82. Schauer, P.R., et al., *Bariatric surgery versus intensive medical therapy in obese patients with diabetes*. *The New England journal of medicine*, 2012. **366**(17): p. 1567-1576.
83. Gummesson, A., E. Nyman, M. Knutsson, and M. Karpefors, *Effect of weight reduction on glycated haemoglobin in weight loss trials in patients with type 2 diabetes*. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2017. **19**(9): p. 1295-1305.

84. Taylor, R., et al., *Remission of Human Type 2 Diabetes Requires Decrease in Liver and Pancreas Fat Content but Is Dependent upon Capacity for β Cell Recovery*. Cell Metabolism, 2018. **28**(4): p. 547-556.e3.
85. Stenberg, E. and A. Thorell, *Insulin resistance in bariatric surgery*. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 2020. **23**(4): p. 255-261.
86. Rubino, F., *Bariatric surgery: effects on glucose homeostasis*. Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care, 2006. **9**(4): p. 497-507.
87. Koliaki, C., et al., *Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis*. Cell metabolism, 2015. **21**(5): p. 739-746.
88. Sanyal, A.J., et al., *Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities*. Gastroenterology, 2001. **120**(5): p. 1183-1192.
89. Larsen, S., et al., *Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects*. The Journal of Physiology, 2012. **590**(14): p. 3349-3360.
90. Djafarzadeh, S. and S.M. Jakob, *High-resolution Respirometry to Assess Mitochondrial Function in Permeabilized and Intact Cells*. J Vis Exp, 2017(120).
91. Bakkman, L., et al., *Reduced respiratory capacity in muscle mitochondria of obese subjects*. Obesity facts, 2010. **3**(6): p. 371-375.
92. Vijgen, G.H., et al., *Impaired skeletal muscle mitochondrial function in morbidly obese patients is normalized one year after bariatric surgery*. Surgery for Obesity and Related Diseases, 2013. **9**(6): p. 936-941.
93. Nijhawan, S., et al., *Bariatric surgery rapidly improves mitochondrial respiration in morbidly obese patients*. Surgical endoscopy, 2013. **27**(12): p. 4569-4573.
94. Fernström, M., et al., *Improved muscle mitochondrial capacity following gastric bypass surgery in obese subjects*. Obesity surgery, 2016. **26**(7): p. 1391-1397.
95. Selvin, E., N.P. Paynter, and T.P. Erlinger, *The Effect of Weight Loss on C-Reactive Protein: A Systematic Review*. Archives of Internal Medicine, 2007. **167**(1): p. 31-39.
96. Askarpour, M., et al., *Effect of Bariatric Surgery on Serum Inflammatory Factors of Obese Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis*. Obesity Surgery, 2019. **29**(8): p. 2631-2647.
97. Seo, Y.Y., et al., *Tumor Necrosis Factor- α as a Predictor for the Development of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A 4-Year Follow-Up Study*. enm, 2013. **28**(1): p. 41-45.