

Aus der Klinik und Poliklinik für Radiologie
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Jens Ricke

**MR-basierte Leberfettmessung in einer kardiovaskulär gesunden Referenzpopulation:
Evaluation eines mehrstufigen MR-Screening-Protokolls zur
Detektion und Quantifizierung der Steatosis hepatis
sowie deren quantitative Assoziation mit Rauchen und Alkoholkonsum**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Christian Bayerl
aus
Pfaffenhofen a. d. Ilm

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Fabian Bamberg
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Susanna Hofmann
PD Dr. med. Gerwin Schmidt
Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: PD Dr. med. Holger Hetterich
Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel
Tag der mündlichen Prüfung: 18.07.2019

Eidesstaatliche Versicherung

Name, Vorname: **Bayerl, Christian**

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

**MR-basierte Leberfettmessung in einer kardiovaskulär gesunden Referenzpopulation:
Evaluation eines mehrstufigen MR-Screening-Protokolls zur Detektion und
Quantifizierung der Steatosis hepatis sowie deren quantitative Assoziation mit Rauchen
und Alkoholkonsum**

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Berlin, 05.08.2019

Bayerl, Christian

Ort, Datum

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	8
1.1	Definition und Prävalenz der Fettlebererkrankung	8
1.2	Methoden zur nicht-invasiven Bestimmung des Leberfettgehalts	8
1.2.1	Laborchemische und bildgebende Verfahren sowie deren Einschränkungen	8
1.2.2	Quantifizierung des Leberfettgehalts mittels MR-Spektroskopie und MRT	9
1.3	Assoziation von Leberfett mit Rauchen und Alkoholkonsum – bisherige Erkenntnisse.....	11
1.4	Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg (KORA)	13
1.5	Zielsetzung und Fragestellung	13
2	Methoden und Ergebnisse	15
2.1	Probandenselektion und Datenerhebung	15
2.2	MRT-Protokoll.....	15
2.3	Evaluation eines mehrstufigen, MR-basierten Leberfett-Messprotokolls als Screening-Methode zur Integration in die Routine-Bildgebung	17
2.4	Assoziation des MR-akquirierten Leberfettanteils einer kardiovaskulär gesunden Probandenkohorte mit Rauchen und Alkoholkonsum	18
3	Diskussion und Ausblick	21
4	Eigenanteil an der Arbeit	23
5	Zusammenfassung	24
6	Summary	26
7	Veröffentlichungen.....	28
7.1	Feasibility of a three-step magnetic resonance imaging approach for the assessment of hepatic steatosis in an asymptomatic study population.....	28
7.2	Alcohol consumption, but not smoking is associated with higher MR-derived liver fat in an asymptomatic study population	29
8	Literaturverzeichnis	30
9	Danksagung	34

Abkürzungsverzeichnis

¹H-MRS = Protonen-Magnetresonanzspektroskopie

BMI = *body mass index*

FLD = *fatty liver disease* = Fettlebererkrankung

HFF = *hepatic fat fraction*

HISTO = *high-speed T2-corrected multi-echo single-voxel spectroscopy*

KORA = Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg

MRT = Magnetresonanztomographie

NPV = *negative predictive value* = negativ prädiktiver Wert

OR = Odds-Ratio

PPV = *positive predictive value* = positiv prädiktiver Wert

ROI = *region of interest*

SNR = *signal-to-noise ratio* = Signal-Rausch-Verhältnis

STEAM = *stimulated echo acquisition mode*

TE = *echo time* = Echozeit

VIBE = *volumetric interpolated breath-hold examination*

Publikationsliste

1. Patscheider, H., Lorbeer, R., Auweter, S., Schafnitzel, A., **Bayerl, C.**, Curta, A., Rathmann, W., Heier, M., Meisinger, C., Peters, A., Bamberg, F. and Hetterich, H., *Subclinical changes in MRI-determined right ventricular volumes and function in subjects with prediabetes and diabetes*. Eur Radiol, 2018. **28**(7): p. 3105-3113.
2. **Bayerl, C.**, Lorbeer, R., Heier, M., Meisinger, C., Rospleszcz, S., Schafnitzel, A., Patscheider, H., Auweter, S., Peters, A., Ertl-Wagner, B., Reiser, M., Bamberg, F. and Hetterich, H., *Alcohol consumption, but not smoking is associated with higher MR-derived liver fat in an asymptomatic study population*. PLoS One, 2018. **13**(2): p. e0192448.
3. Heber, S. D., Hetterich, H., Lorbeer, R., **Bayerl, C.**, Machann, J., Auweter, S., Storz, C., Schlett, C. L., Nikolaou, K., Reiser, M., Peters, A. and Bamberg, F., *Pancreatic fat content by magnetic resonance imaging in subjects with prediabetes, diabetes, and controls from a general population without cardiovascular disease*. PLoS One, 2017. **12**(5): p. e0177154.
4. Lorbeer, R., **Bayerl, C.**, Auweter, S., Rospleszcz, S., Lieb, W., Meisinger, C., Heier, M., Peters, A., Bamberg, F. and Hetterich, H., *Association between MRI-derived hepatic fat fraction and blood pressure in participants without history of cardiovascular disease*. J Hypertens, 2017. **35**(4): p. 737-744.

5. Bamberg, F., Hetterich, H., Rospleszcz, S., Lorbeer, R., Auweter, S. D., Schlett, C. L., Schafnitzel, A., **Bayerl, C.**, Schindler, A., Saam, T., Muller-Peltzer, K., Sommer, W., Zitzelsberger, T., Machann, J., Ingrisich, M., Selder, S., Rathmann, W., Heier, M., Linkohr, B., Meisinger, C., Weber, C., Ertl-Wagner, B., Massberg, S., Reiser, M. F. and Peters, A., *Subclinical Disease Burden as Assessed by Whole-Body MRI in Subjects With Prediabetes, Subjects With Diabetes, and Normal Control Subjects From the General Population: The KORA-MRI Study*. Diabetes, 2017. **66**(1): p. 158-169.

6. Hetterich, H., **Bayerl, C.**, Peters, A., Heier, M., Linkohr, B., Meisinger, C., Auweter, S., Kannengiesser, S. A., Kramer, H., Ertl-Wagner, B. and Bamberg, F., *Feasibility of a three-step magnetic resonance imaging approach for the assessment of hepatic steatosis in an asymptomatic study population*. Eur Radiol, 2016. **26**(6): p. 1895-904.

1 Einleitung

1.1 Definition und Prävalenz der Fettlebererkrankung

Die Fettlebererkrankung (*fatty liver disease*, FLD) ist definiert als eine chronische Erkrankung der Leber mit erhöhter Akkumulation von Triglyzeriden in den Hepatozyten; die Diagnosestellung erfolgt hierbei über bildgebende oder histologische Verfahren [1]. Das Spektrum der FLD – unabhängig von ihrer vielfältigen Ätiologie [2] – reicht von der benignen Steatosis hepatis bis zur Steatohepatitis mit erhöhtem Risiko der Entwicklung einer Leberzirrhose bzw. eines hepatozellulären Karzinoms [1]. Als pathologisch im Sinne einer FLD wurde, in Anlehnung an vorangegangene Studien ein Grenzwert von $\geq 5,56$ % festgesetzt, entsprechend der 95. Perzentile des in gesunden Probanden gemessenen Leberfettgehalts [3, 4]. Die Prävalenz der Steatosis hepatis in der Allgemeinbevölkerung wird mit etwa ein Drittel beziffert [4], in Hochrisikogruppen wie beispielsweise unter stark Übergewichtigen bis zu 91 % [5]. Zu Beginn der Erkrankung ist die benigne Steatosis hepatis u.a. durch Anpassungen des Lebensstils zumeist reversibel, weshalb eine Früherkennung klinisch und wirtschaftlich von enormer Bedeutung ist.

1.2 Methoden zur nicht-invasiven Bestimmung des Leberfettgehalts

1.2.1 Laborchemische und bildgebende Verfahren sowie deren Einschränkungen

In der klinischen Routine spielt die Leberfettbestimmung u.a. eine Rolle zum Monitoring bei Adipositas bzw. erhöhter Insulinresistenz, zur Organevaluation vor Lebendspende oder zum Monitoring einer HIV- oder Chemotherapie-assoziierten Steatose [6]. Hierfür stehen verschiedene laborchemische bzw. bildgebende Verfahren zur nicht-invasiven Diagnostik zur

Verfügung, welche jedoch teilweise mit deutlichen Einschränkungen verbunden sind: Eine Möglichkeit zur Risikoabschätzung bietet die Evaluation mittels Serum-Leberenzymen bzw. Indizes wie dem *Fatty Liver Index*, in dessen Berechnung klinische Routine-Parameter (BMI, Hüftumfang, Triglyzeride und gamma-GT) einfließen. Diese Methodik lässt erste Schlüsse zu, ob weitere (bildgebende) Diagnostik nötig ist bzw. bereits erste therapeutische Maßnahmen wie Lebensstilmodifikationen eingeleitet werden sollen [7]. Eine häufig verwendete bildgebende Methode zur Identifizierung und semiquantitativen Bestimmung einer Steatosis hepatis ist der Ultraschall. Die Methode ist jedoch ungenau bei der Identifikation milder Formen sowie bei zirrhotischem Leberparenchymbau und weist eine starke Untersucherabhängigkeit auf [8, 9]. Eine höhere diagnostische Präzision mit der Möglichkeit einer Quantifizierung des Leberfettgehalts bietet die Computertomographie [6]. Signifikante Nachteile der Computertomographie sind jedoch die Strahlenbelastung sowie Messunsicherheiten bei erhöhtem Eisengehalt der Leber [10]. Als Methoden der Wahl zur nicht-invasiven Leberfettquantifizierung, insbesondere auch zur Detektion milder Formen der Steatosis hepatis haben sich die MRT und Protonen-Magnetresonanzspektroskopie (^1H -MRS) erwiesen, welche im Folgenden genauer beleuchtet werden.

1.2.2 Quantifizierung des Leberfettgehalts mittels MR-Spektroskopie und MRT

MR-Spektroskopie

Die Protonen-Magnetresonanzspektroskopie stellt die Methode der Wahl zur präzisen, nicht-invasiven Quantifizierung des Leberfettgehalts dar und liefert hierbei Ergebnisse, die mit histopathologischen Methoden sehr gut korrelieren [3, 11-14]. Die Methode liefert Informationen über die Zusammensetzung bestimmter Gewebemetaboliten, gemittelt in einem dreidimensionalen Gewebebereich (Voxel). Das bei der ^1H -MRS erhaltene Signal enthält die

präzidierenden Frequenzbereiche der jeweiligen Moleküle, welche – im Gegensatz zur MR-basierten Leberfettmessung – nicht durch Gradienten verfälscht werden [15]. Hieraus resultiert eine nahezu unverfälschte Wiedergabe der Konzentrationen der Gewebemetaboliten in dem vordefinierten Gewebereich [15]. Eine Möglichkeit zur Erfassung des jeweiligen Frequenzspektrums ist der „*stimulated echo acquisition mode*“ (STEAM), eine multi-Echo single-shot Technik, die eine $90^\circ - 90^\circ - 90^\circ$ Pulsfolge zur Signalerfassung benutzt. Über komplexe Nachverarbeitungsalgorithmen wird die Konzentration des jeweiligen Metaboliten durch Extrapolation der Integrale der Wasser- und Fettsignale für $TE=0$ berechnet. Zur Fettquantifizierung ist – im Gegensatz zur Quantifizierung anderer Gewebekomponenten – kein besonders hohes Signal-Rausch-Verhältnis (*signal-to-noise ratio*, SNR) nötig [16], wodurch Messzeiten von unter einer Minute möglich sind. Nachteile sind jedoch ein relativ kleiner Messbereich (Voxel) sowie eine Variabilität der Messergebnisse in Abhängigkeit der Messparameter verschiedener MR-Systeme [16]. Mitunter aus diesen Gründen ist die ^1H -MRS bislang nur einem kleinen Patientenkollektiv, meist im Rahmen von Forschungsprotokollen vorbehalten.

Multi-Echo und dual-Echo Dixon

Zunehmend Einzug in die klinische Routine findet die sogenannte Dixon-Technik. Sie beruht auf dem sog. „*chemical shift imaging*“, also der Tatsache, dass gleichartige Atomkerne, die in unterschiedlichen Molekülen gebunden sind, auch unterschiedliche Resonanzfrequenzen aufweisen. Zur Messung des Leberfettgehalts zieht man die Resonanzfrequenzen der Protonen in Wasser und Methylenprotonen der Fettsäureketten heran: Es kommt zu einer Phasendifferenz der beiden Protonen, sobald diese innerhalb eines Voxels mittels eines frequenzselektiven Impulses ausgelenkt werden. Zu Beginn der transversalen Relaxation ($TE=0$) sind die Protonen von Wasser und Fett in Phase („*in-phase*“) und geraten im Laufe der Zeit außer Phase und

befinden sich – beispielhaft für ein 1,5 Tesla-MRT – nach einer TE von 2,2 ms um 180° entgegengesetzt („*opposed-phase*“); nach weiteren 2,2 ms befinden sich die Protonen wieder in Phase usw. [15]. Somit addieren sich in der „*in-phase*“-Situation die Wasser- und Fettmagnetisierungen und bewirken ein starkes Signal. In der „*opposed-phase*“-Situation subtrahieren sich diese. Dies kann für eine selektive Unterdrückung entweder des Wasser- oder Fettsignals benutzt werden und so für die Berechnung des Leberfettanteils – im Folgenden als *hepatic fat fraction* (HFF) bezeichnet – herangezogen werden [15, 17].

Die MR-Spektroskopie und multi-Echo Dixon stellen im Kontext der nicht-invasiven Verfahren zur Bestimmung des Fettgehalts der Leber aufgrund ihrer Präzision zwar die Methoden der Wahl dar, sind jedoch durch teilweise lange Akquisitionszeiten und aufwändige Nachbearbeitungsprozesse [3, 11-14] als primäre, alleinstehende Screening-Methoden eingeschränkt.

1.3 Assoziation von Leberfett mit Rauchen und Alkoholkonsum – bisherige Erkenntnisse

In der Therapie der FLD spielen Lebensstilmodifikationen, die Rauchen und Alkoholkonsum als potenzielle Risikofaktoren einschätzen, eine bedeutende Rolle. Bisher jedoch zeigt sich die Literatur uneinig über die Effekte von Rauchen und Alkoholkonsum auf die Entstehung und den Verlauf der FLD.

Bekanntermaßen führt exzessiver Alkoholkonsum zu einem strukturellen Umbau des Leberparenchyms, im Endstadium bis zur Zirrhose reichend; dieses Risiko steigt mit zunehmendem Alkoholkonsum [18]. Interessanterweise haben mehrere Studien jedoch gezeigt, dass sowohl ein moderater [19-22] als auch ein über einen längeren Zeitraum erhöhter Konsum

von Alkohol (≥ 280 g/Woche) [21] auch einen protektiven Effekt auf die Entstehung einer FLD haben könnte.

Betrachtet man die Zusammenhänge zwischen Rauchverhalten und Übergewicht, so zeigen vorangegangene Studien weitestgehend einheitliche Ergebnisse [23-27]: Raucher waren weniger häufig übergewichtig verglichen mit Nie-Rauchern, wohingegen sich in der Gruppe der Ex-Raucher eine höhere Tendenz zu Übergewicht – verglichen mit Rauchern und Nie-Rauchern – zeigte. Übertragen auf die Entstehung der FLD könnte man hypothetisch ähnliche Zusammenhänge annehmen: Raucher seien – verglichen mit Nie-Rauchern – deutlich seltener von FLD betroffen und Ex-Raucher seien häufiger betroffen als Raucher und Nie-Raucher. Die Literatur ist diesbezüglich jedoch widersprüchlich: Einige Studien zeigen keinen Einfluss des Rauchverhaltens auf die Entstehung der FLD [28, 29], andere berichten hingegen von einer erhöhten FLD-Prävalenz unter Rauchern [30, 31].

Die Notwendigkeit einer Neubetrachtung obengenannter Zusammenhänge ergibt sich u.a. aus folgenden Einschränkungen vorangegangener Arbeiten: Die Diagnose der FLD wurde durch laborchemische Methoden, anhand von Kriterien des metabolischen Syndroms sowie anhand von Ultraschallkriterien (*vascular blurring*, Leber-Milz-Kontrast etc.) gestellt [19-22, 28, 30, 31], die jedoch erhebliche Schwächen insbesondere bei der Erfassung relativ geringer Leberfettmengen aufweisen. Ebenso nicht-invasive, jedoch präzise, quantitative Messmethoden mit einer hohen Sensitivität auch in niedrigen Messbereichen, wie multi-Echo Dixon und ^1H -MRS stellen für eine Neubetrachtung der Assoziation zwischen Leberfett und Alkoholkonsum bzw. Rauchen die Methoden der Wahl dar.

1.4 Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg (KORA)

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen des KORA-Projekts. KORA steht für „Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg“, einer Forschungsplattform des Helmholtz Zentrums München zur Untersuchung der Zusammenhänge von Gesundheit, Krankheit und den Lebensumständen der Bevölkerung. Die Plattform ging 1996 aus dem MONICA-Projekt (*monitoring trends and determinants in cardiovascular disease*) in der Region Augsburg hervor. Die KORA-Kohorte als Teil des KORA-Projekts, setzt sich aus vier Basiskohorten (S1 – S4) zusammen, die – erstmals im Jahre 1984 – in regelmäßigen Abständen befragt bzw. untersucht werden [32]. Übergeordnete Ziele des KORA-Projekts sind hierbei die Förderung der Gesundheitsforschung mit den Schwerpunktthemen Diabetes mellitus, Herz-Kreislauf- und Lungenerkrankungen, die Verbesserung der Bevölkerungsgesundheit, der Gesundheits- und Krankheitsversorgung sowie die Beratung politischer Entscheidungsträger bei gesundheitspolitischen Fragen [32].

1.5 Zielsetzung und Fragestellung

Im Rahmen der vorliegenden Dissertation am Institut für klinische Radiologie, Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München, wurden zwei wissenschaftliche Arbeiten verfasst.

Das erste Projekt befasst sich mit der Evaluation eines mehrstufigen, MR-basierten Screening-Ansatzes zur Detektion und Quantifizierung der Steatosis hepatis (definiert als Leberfettgehalt $\geq 5\%$) mittels dual-Echo Dixon, multi-Echo Dixon und ^1H -MRS. Die Ergebnisse wurden in *European Radiology* (Impact Factor 2016: 3,967) veröffentlicht.

Die Hypothesen waren, dass (1) die Steatosis hepatis im Rahmen eines Screening-Ansatzes mittels Dual-echo Dixon verlässlich mit hoher Spezifität ausgeschlossen bzw. mit hoher Sensitivität diagnostiziert werden kann und (2) diese Einstufung mittels multi-Echo Dixon und ¹H-MRS verlässlich verifiziert und quantifiziert werden kann.

Im zweiten Projekt wird die Assoziation zwischen Rauchen, Alkoholkonsum und dem mittels eines zwei-stufigen, MR-basierten Ansatzes akquirierten Leberfettanteils in einem kardiovaskulär gesundem Bevölkerungsquerschnitt untersucht. Die Ergebnisse wurden in PLOS ONE (Impact Factor 2017: 2,766) veröffentlicht.

Die Hypothesen waren, dass (1) eine direkte Korrelation zwischen Alkoholkonsum und HFF bzw. FLD-Prävalenz besteht und dass (2) Ex-Raucher – verglichen mit Rauchern und Nie-Rauchern – eine erhöhte HFF bzw. FLD-Prävalenz aufweisen.

2 Methoden und Ergebnisse

2.1 Probandenselektion und Datenerhebung

Probanden der vorliegenden MRT-Substudie wurden aus der KORA FF4-Kohorte, der zweiten Follow-Up Untersuchung der Basiskohorte KORA S4 (n=4.261), rekrutiert. Ausgeschlossen wurden Probanden mit bekannten kardiovaskulären Vorerkrankungen, MRT-Kontraindikationen, Niereninsuffizienz sowie Alter zum Untersuchungszeitpunkt ≥ 74 Jahre [33]. Nach Einwilligung erhielten die eingeschlossenen Probanden eine Ganzkörper-MRT-Untersuchung nach einem dedizierten Protokoll mit kardiovaskulärem Schwerpunkt [33]. Zusätzlich wurden die Probanden über Fragebögen und laborchemische Untersuchungen im Rahmen der Follow-up-Untersuchungen im KORA-Studienzentrum kategorisiert. Die Kategorisierung der Hauptvariablen Alkoholkonsum und Rauchen stellt sich wie folgt dar: Die Variable Alkoholkonsum wurde in kein, moderater und hoher Alkoholkonsum gegliedert mit Geschlechts-spezifischen Grenzwerten, basierend (1) auf der unterschiedlichen Ethanol-Metabolisierung bei Männern und Frauen sowie (2) auf den Auswirkungen des Alkoholkonsums auf die Gesamt- bzw. kardiovaskuläre Mortalität [34-37]. Die Probanden wurden bezüglich des Rauchverhaltens über standardisierte Fragebögen in Nie-Raucher, Ex-Raucher und Raucher eingeteilt.

2.2 MRT-Protokoll

Das MRT Protokoll enthält drei Sequenzen zur Quantifizierung des Leberfettgehalts: dual-Echo Dixon, multi-Echo Dixon sowie eine multi-Echo ^1H -MR-Spektroskopie (^1H -MRS):

Dual-Echo Dixon

Zur automatisierten Messung des Leberfetts wurde die Leber mittels einer dreidimensionalen *in- und opposed-phase*, „*volumetric interpolated breath-hold examination*“ -Sequenz (VIBE) untersucht. Nach Akquirierung wurde die Leber mittels einer Prototyp-Software [38, 39] automatisch segmentiert und – unter Berücksichtigung eines Steatose-Grenzwerts von 5% - in „*normal*“, „*fatty infiltration*“, „*iron overload*“ und „*combined disease*“ kategorisiert. Bei Überschreiten des Grenzwerts wurde der Mittelwert der über die gesamte, segmentierte Leber gemessenen Einzelwerte berechnet. Die gesamte Untersuchung dauerte 15 Sekunden mit nur einer Atemanhaltephase.

Multi-Echo-Dixon

Diese Methode basierte in unserem Untersuchungsprotokoll ebenfalls auf der oben beschriebenen VIBE Prototyp-Sequenz. Die gesamte Untersuchung dauerte 15 Sekunden mit nur einer Atemanhaltephase. Nach Akquirierung wurde der Leberfettgehalt in manuell platzierten *regions of interest* (ROI) in axialer Schicht unter Vermeidung großer intrahepatischer Gefäße und extrahepatischen Gewebes gemessen.

Multi-Echo ¹H-MRS

Basierend auf einer „*high-speed T2-corrected multi-echo single-voxel spectroscopy*“ (HISTO) mit *stimulated-echo acquisition mode* (STEAM) wurde der Leberfettanteil in zwei vorausgewählten Voxels in den Segmenten II und VIII (jeweils 30 x 30 x 30 mm³ messend) bestimmt. Über eine Prototyp-Software erfolgten die Berechnungen des Leberfettgehalts, der Relaxationsraten für Wasser und Fett etc. Die gesamte Untersuchung dauerte 15 Sekunden mit nur einer Atemanhaltephase.

2.3 Evaluation eines mehrstufigen, MR-basierten Leberfett-Messprotokolls als Screening-Methode zur Integration in die Routine-Bildgebung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein MR-basierter, dreistufiger Screening-Ansatz zur Detektion und Quantifizierung der Steatosis hepatis evaluiert, welcher folgende Schritte beinhaltet: In einem ersten Schritt soll die primäre Messmethode, die dual-Echo Dixon, mittels automatischer Segmentierung der Leber eine Steatosis hepatis mit möglichst hoher Sicherheit ausschließen. Kann eine Steatosis hepatis nicht ausgeschlossen werden oder liegt diese mit hoher Sicherheit vor, wird die Diagnose in einem nächsten Schritt mittels etablierter Methoden wie der multi-Echo Dixon oder ¹H-MRS quantitativ evaluiert werden. Die Leberfettmessung mittels multi-Echo Dixon erfolgte in vorliegender Studie mittels je drei manuell platzierter ROIs in den Lebersegmenten II und VIII (jeweils 30 x 30 mm² messend) in unterschiedlichen axialen Schichten. Die Probanden dieser Studie (n=215) mit einem Durchschnittsalter von 57±9,4 Jahren (56,3% männlich) entstammen der KORA FF4-Kohorte. Die Korrelation der drei Messmethoden war exzellent ($r \geq 0,9$; $p < 0,001$). Die dual-Echo Dixon überschätzte den Leberfettgehalt im Schnitt um lediglich 1,4±2,0% ($p < 0,0001$), was in der klinischen Routine-Bildgebung – trotz fehlender Korrekturmechanismen für T2* etc. – keine größere Relevanz darstellt. Insbesondere die hohe Sensitivität von 0,97 (NPV 0,96) sowie die Spezifität von 0,75 (PPV 0,81) der dual-Echo Dixon sprechen für die Möglichkeit zur Integration in die Routine-Bildgebung, zumal die ¹H-MRS zur primären Fettquantifizierung nicht in allen Zentren flächendeckend verfügbar ist.

Die in unserem Protokoll verwendete HISTO-Methode erlaubt – im Gegensatz zur konventionellen Spektroskopie – eine Akquisition in nur einer Atemanhaltephase und eine automatisierte, Benutzer-unabhängige Nachverarbeitung bei exzellenter Korrelation mit histopathologischen Methoden [13]. Bedeutend für die Verlässlichkeit der Messung ist jedoch die korrekte Platzierung des Voxels in den Lebersegmenten II und VIII unter Ausschluss

großer, intrahepatischer Gefäße sowie extrahepatischen Gewebes. Dies kann sich bei einer Voxelgröße von $30 \times 30 \times 30 \text{ mm}^3$ insbesondere im linken Leberlappen als schwierig erweisen und zu falsch-hohen Ergebnissen führen. Insbesondere zur Exklusion intrahepatischer Gefäße sowie bei inhomogener Fettverteilung erscheint eine ergänzende, manuelle Messung mittels multi-Echo Dixon von Vorteil. Vereinzelt kommt es zu sogenannten „*water-fat swaps*“, also Artefakten, die aufgrund der natürlichen Ambiguität der Phasenkodierung auftreten [40]. Diese treten bevorzugt bei geringem Leberfettanteil auf und führen zu einer deutlichen Überschätzung des Leberfettanteils, können jedoch visuell leicht detektiert werden.

Zusammenfassend erlaubt das in der vorliegenden Publikation beschriebene dreistufige MRT-Screening-Protokoll eine rasche und zuverlässige Identifizierung bzw. den Ausschluss einer Steatosis hepatis mit anschließender, präziser Quantifizierung des Leberfettgehalts mit der Möglichkeit zur nahtlosen Integration in die klinische Routine-Bildgebung.

2.4 Assoziation des MR-akquirierten Leberfettanteils einer kardiovaskulär gesunden Probandenkohorte mit Rauchen und Alkoholkonsum

In der vorliegenden Arbeit wurde die Assoziation zwischen Leberfettanteil und Rauchverhalten bzw. Alkoholkonsum betrachtet. Der Leberfettgehalt wurde hierbei stufenlos mittels multi-Echo Dixon und ^1H -MRS gemessen. Die Leberfettmessung mittels multi-Echo Dixon erfolgte in vorliegender Studie mittels manueller Segmentierung des Leberparenchyms auf Höhe der Pfortader unter Ausschluss großer intrahepatischer Gefäße und extrahepatischen Gewebes. Die Probanden ($n=384$) dieser Studie mit einem Durchschnittsalter von $56,2 \pm 9,1$ Jahren entstammen der KORA FF4-Kohorte. Der mittlere Leberfettgehalt war $8,8 \pm 8,0\%$ in der ^1H -MRS und $8,5 \pm 8,4\%$ in der multi-echo Dixon ($p=0,612$).

Hoher Alkoholkonsum zeigte eine direkte, positive Korrelation mit Leberfett ($^1\text{H-MRS}$: $\beta=2,99$, $p=0,003$) und die höchste Odds-Ratio für FLD ($^1\text{H-MRS}$: $\text{OR}=3,05$, $p=0,008$) nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, BMI, Hypertension, Diabetes Mellitus und Rauchverhalten, was sich mit etablierten, molekularen Mechanismen erklären lässt [41]. Moderater Alkoholkonsum war nach Adjustierung assoziiert mit einem höheren Leberfettanteil in beiden Messmethoden ($^1\text{H-MRS}$: $\beta=1,54$, $p=0,061$; multi-Echo Dixon: $\beta=1,75$, $p=0,050$). Entgegen vorangegangener Studien [19-22] kann ein protektiver Effekt durch moderaten Alkoholkonsum durch unsere Studie somit nicht bestätigt werden. Dies mag unter anderem in der Tatsache begründet liegen, dass vorangegangene Studien sich auf bestimmte alkoholische Getränke, z.B. Wein – wie Dunn et al. – beschränkt haben [19], der mittels Quercetin antioxidativ auf die Leber wirkt [42]. Zudem stützten sich frühere Studien in der Diagnose der FLD lediglich auf laborchemische Analysen sowie Kriterien des metabolischen Syndroms und des Ultraschalls [19-22], wohingegen eine kontinuierliche, MR-basierte Leberfettmessung deutlich präzisere Aussagen zulässt.

Bezogen auf das Rauchverhalten zeigte die Gruppe der Ex-Raucher den höchsten Durchschnittswert für Leberfett ($^1\text{H-MRS}$: $10,5\pm 8,5\%$ und MRI: $10,2\pm 9,0\%$) und die höchste Odds-Ratio für FLD in beiden Messmethoden ($^1\text{H-MRS}$: $\text{OR}=1,79$, $p=0,013$; MRI: $\text{OR}=1,91$, $p=0,006$). Zudem zeigt sich eine signifikante, positive Korrelation mit HFF, welche jedoch nach Adjustierung nach Alter, Geschlecht, BMI, Hypertension, Diabetes Mellitus und Alkoholkonsum verschwindet. Wie sich in zusätzlichen Analysen zeigte, war die relevante Störvariable hierbei der BMI. Interessanterweise weist die Gruppe der Ex-Raucher zudem einen erhöhten BMI verglichen mit der Gruppe der Nie-Raucher auf, was mit dem oft in der Literatur beschriebenen „*weight gain*“-Effekt [25, 26] nach Rauch-Stopp erklärt werden könnte. Die Erklärungsansätze für diesen Effekt reichen von hormonellen Mechanismen (über die Hormone Leptin und Ghrelin) [43, 44], über Regulationen im Energiehaushalt [45] bis hin zu

Veränderungen hinsichtlich der Insulinresistenz [46]. Es erscheint naheliegend, dass der bei Ex-Rauchern beobachtete, erhöhte Leberfettanteil mutmaßlich über einen erhöhten BMI nach einem Rauch-Stopp bedingt ist.

Betrachtet man die Gruppe der Raucher, so zeigte sich unter diesen die niedrigste Prävalenz für FLD ($^1\text{H-MRS}$: 31,2%; MRI: 27,3%) und die niedrigste Odds-Ratio für FLD, verglichen mit den anderen Subgruppen ($^1\text{H-MRS}$: OR=0,37, $p=0,007$). Verglichen mit Nie-Rauchern zeigten Raucher bezüglich der HFF dagegen keine signifikanten Unterschiede. Dies lässt sich u.a. ebenfalls durch einen Appetit-reduzierenden Effekt des Rauchens [23, 24, 44, 45], der wiederum zu einem niedrigeren BMI führt, erklären.

3 Diskussion und Ausblick

Die Steatosis hepatis stellt mit einer Prävalenz von bis zu 30% in der Allgemeinbevölkerung [4] und bis zu 91% in Hochrisikopatienten [5] und ihren schweren Folgeerkrankungen, bis zur Zirrhose oder einem hepatozellulären Karzinom reichend, ein gesundheits-ökonomisches Problem dar. In frühen, teils reversiblen Stadien wird sie jedoch häufig übersehen, insbesondere wenn keine prädisponierenden Begleiterkrankungen vorliegen. Aus diesem Grund besteht die Notwendigkeit einer verlässlichen und schnellen Screening-Methode zur Detektion und Quantifizierung der Steatosis hepatis im klinischen Alltag. Es konnte gezeigt werden, dass unser Screening-Protokoll – bestehend aus dual-Echo Dixon, multi-Echo Dixon und ¹H-MRS – eine hervorragende Möglichkeit zur Identifizierung bzw. zum Ausschluss der Steatosis hepatis mit anschließender, präziser Quantifizierung bietet und bei kurzer Akquisitionszeit nahtlos in die klinische Routine-Bildgebung integriert werden kann. Die Korrelation der drei Messmethoden erwies sich als exzellent und die Überschätzung des Leberfettgehalts um lediglich 1,4% in der dual-Echo Dixon besitzt im klinischen Alltag keine größere Relevanz. Eine Integration der dual-Echo Dixon birgt insbesondere Vorteile, wenn eine Steatosis hepatis zum Zeitpunkt der Bildgebung nicht primär vermutet wird, zumal die ¹H-MRS zur primären Fettquantifizierung nicht in allen Zentren flächendeckend verfügbar ist. Die wirtschaftliche Effizienz eines rein MR-basierten Screenings der Steatose ist jedoch fraglich und muss in weiteren Studien evaluiert werden. Deutliche Vorteile birgt der vorgestellte Ansatz jedoch in großen klinischen und epidemiologischen Studien, insbesondere in Hinblick auf die automatisierte Datengewinnung und –verarbeitung.

Bezüglich der Assoziation von MR-akquiriertem Leberfettanteil und Rauchverhalten bzw. Alkoholkonsum machten insbesondere Einschränkungen in der Methodik der Diagnose der FLD vorangegangener Studien [19-22, 28, 30, 31] eine Neubetrachtung nötig. Eine stufenlose,

quantitative Messung des Leberfettgehalts mittels multi-Echo Dixon und ^1H -MRS fand in derartigen Studien bislang nicht Eingang und stellt zur Betrachtung oben genannter Zusammenhänge in einem kardiovaskulär gesunden Bevölkerungsquerschnitt die Methodik der Wahl dar.

In unseren Ausführungen als einschränkend zu ergänzen sind jedoch die Tatsachen, dass (1) es sich bei vorliegender Studie um eine Querschnittsstudie handelt, welche keine direkten kausalen oder zeitlichen Rückschlüsse zulässt, dass (2) Angaben zu Alkoholkonsum und Rauchverhalten auf rein subjektiven Angaben im Rahmen eines Fragebogens basieren und dass (3) neben den berücksichtigten, oben aufgeführten Störvariablen auch bisher unentdeckte die Analysen beeinflussen können.

Es sind weitere – sowohl experimentelle als auch klinische – Studien nötig, die die komplexen Mechanismen von Rauchen und Alkoholkonsum auf die Leber beleuchten. Insbesondere in großen Kohortenstudien zeigen sich die multi-Echo Dixon und ^1H -MRS aufgrund ihrer Präzision und des nicht-invasiven Charakters als Methoden der Wahl.

4 Eigenanteil an der Arbeit

Die vorliegende kumulative Dissertation umfasst zwei Publikationen. Der Doktorand ist Erstautor der Publikation „Alcohol consumption, but not smoking is associated with higher MR-derived liver fat in an asymptomatic study population“. Hypothesengenerierung, Design der Studie, Datenerhebung, Auswertung der Bilddatensätze sowie die wissenschaftliche Darstellung der Ergebnisse erfolgte hauptsächlich und eigenständig durch den Doktoranden. Es erfolgte regelmäßig Rücksprache mit Herrn PD Dr. med. Holger Hetterich sowie Prof. Dr. med. Fabian Bamberg. Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. rer. med. Roberto Lorbeer. Bei weiteren spezielleren Fragestellungen bestand ein reger Informationsaustausch mit den weiteren Ko-Autoren.

Der Doktorand ist Zweitautor der Publikation „Feasibility of a three-step magnetic resonance imaging approach for the assessment of hepatic steatosis in an asymptomatic study population“. Der Doktorand war maßgeblich an der Planung der Studie, der Datenerhebung und -auswertung beteiligt. Er arbeitete intensiv an der Publikation mit und trug wesentliche Inhalte dazu bei.

5 Zusammenfassung

Mit einer Prävalenz von 30% in der Allgemeinbevölkerung [4] und bis zu 91% in Hochrisikopatienten [5] mit ihren oft schwerwiegenden Folgeerkrankungen [47] stellt die Steatosis hepatis ein zunehmendes gesundheits-ökonomisches Problem dar. Insbesondere in frühen Stadien ist sie jedoch teilweise reversibel und kann über Lebensstilmodifikationen [48], die häufig auf eine Anpassung des Alkoholkonsums und Rauchverhaltens abzielen, im Fortschreiten eingedämmt werden. In Anknüpfung an diese Thematik beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit (1) der Evaluation einer MR-basierten Screening-Methode zur frühen Detektion und Quantifizierung der Steatosis hepatis sowie mit (2) der Assoziation von Rauchverhalten bzw. Alkoholkonsum und der Steatosis hepatis. Die Probanden beider Arbeiten entstammen der FF4-Follow-Up-Studie der KORA-Kohorte (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg). Diese wurden über Fragebögen und laborchemische Untersuchungen im KORA-Studienzentrum in regelmäßigen Abständen charakterisiert und erhielten am Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilians-Universität München eine Ganzkörper-MRT-Untersuchung mittels eines 3 Tesla-MRT.

Das vorgestellte Screening-Protokoll – bestehend aus dual-Echo Dixon, multi-Echo Dixon und ¹H-MRS – stellt eine hervorragende Möglichkeit zur Identifizierung bzw. zum Ausschluss der Steatosis hepatis mit anschließender, präziser Quantifizierung dar: Das Protokoll kann bei einer reinen Scan-Zeit von zirka 15 Sekunden pro Sequenz mit jeweils einer Atemanhaltephase optimal in die klinische Routine-Bildgebung integriert werden. Die Korrelation der drei Messmethoden untereinander erwies sich als exzellent. Die dual-Echo Dixon überschätzte den Leberfettgehalt lediglich um $1,4 \pm 2,0\%$ ($p < 0,0001$) bei einer hervorragenden Sensitivität von 0,97 (NPV 0,96) und einer Spezifität von 0,75 (PPV 0,81).

Zur Prävention bzw. Therapie der Steatosis hepatis ist in der Literatur häufig von Lebensstilmodifikationen die Rede, die unter anderem auf eine Anpassung des Alkoholkonsums und Rauchverhaltens abzielen. Die bisher aufgezeigten Assoziationen von Rauchen bzw. Alkoholkonsum und der Steatosis hepatis sind in der Literatur jedoch teils widersprüchlich und die Diagnosestellung mit weniger präzisen Methoden als der MRT und ¹H-MRS erfolgt. Somit ergab sich die Notwendigkeit einer Neubetrachtung der Assoziation von Alkoholkonsum, Rauchen und stufenlos akquiriertem Leberfettanteil in einem MR-basierten Ansatz in einem kardiovaskulär gesunden Bevölkerungsquerschnitt.

Es konnte gezeigt werden, dass hoher Alkoholkonsum eine direkte, positive Korrelation mit Leberfett sowie die höchste Odds-Ratio für FLD nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, BMI, Hypertension, Diabetes Mellitus und Rauchverhalten aufweist. Moderater Alkoholkonsum war assoziiert mit einem höheren Leberfettanteil in beiden Messmethoden (¹H-MRS: $\beta=1,54$, $p=0,061$; multi-Echo Dixon: $\beta=1,75$, $p=0,050$) nach Adjustierung.

Bezogen auf das Rauchverhalten zeigten Raucher die niedrigste Prävalenz für FLD und die niedrigste Odds-Ratio für FLD, verglichen mit den anderen Subgruppen. Die Gruppe der Ex-Raucher zeigte den höchsten Durchschnittswert für Leberfett und die höchste Odds-Ratio für FLD in beiden Messmethoden.

Zusammenfassend zeigen sich teils widersprüchliche Aussagen zu vorangegangenen Studien, insbesondere bezogen auf moderaten Alkoholkonsum. Dies bekräftigt die Notwendigkeit weiterführender, sowohl experimentieller Studien als auch Kohortenstudien, die die komplexen Zusammenhänge zwischen Rauchen, Alkoholkonsum und dem Lebermetabolismus näher beleuchten. Hierbei sollten nicht-invasive, präzise Methoden in der Bestimmung des Leberfettgehalts in klinischen Studien, wie die MRT und ¹H-MRS bevorzugt Verwendung finden. Auch im klinischen Alltag eignen sich diese Methoden in Kombination mit der dual-Echo Dixon hervorragend für die schnelle und verlässliche Identifizierung und Quantifizierung der Steatosis hepatis, idealerweise im Sinne eines Screening-Protokolls.

6 Summary

The prevalence of fatty liver disease ranges from 30% in the general population [4] up to 91% in high risk patients [5]. Its association with end-stage liver disease like cirrhosis and hepatocellular carcinoma with high liver-related mortality [47] leads to a growing problem in public health economics. In early stages fatty liver disease is often overlooked, but even here it is often reversible using lifestyle interventions [48]. For this reason we (1) evaluated the feasibility of a three-step magnetic resonance imaging approach for comprehensive assessment of hepatic steatosis (defined as liver fat content $\geq 5\%$) in an asymptomatic study population and (2) determined the relation of alcohol consumption and cigarette smoking on continuous-measured hepatic fat in an asymptomatic study population. Subjects of the FF4-follow-up-study of the KORA (Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg) cohort study underwent regular medical investigations in the KORA study center and a whole-body MRI examination, performed on a 3-Tesla MR system (Magnetom Skyra, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) at the Ludwig-Maximilian University Hospital in Munich.

We performed a three-step screening protocol comprising a dual-echo Dixon, multi-echo Dixon and multi-echo ^1H -MRS: Correlations between all three measurements were excellent. Dual-echo Dixon sequence overestimated liver fat fraction by $1.4 \pm 2.0\%$ ($p < 0.0001$) with high sensitivity for hepatic steatosis of 0.97 (NPV 0.96) and good specificity of 0.75 (PPV 0.81). With an acquisition time of approximately 15 sec for each sequence including one breath-hold each, this protocol can be seamlessly included in the daily clinical routine. It conclusively represents a feasible workflow to reliably rule out hepatic steatosis by dual-echo Dixon with precise quantitative assessment by multi-echo Dixon and multi-echo ^1H -MRS.

In concerns of prevention and therapy of fatty liver disease lifestyle modifications often include restrictions of alcohol and cigarette smoking, but literature on the effects of smoking and

alcohol consumption is still conflicting and lacks of accurate methods for the precise and reliable assessment of liver fat. This is why we determined the relation of alcohol consumption and cigarette smoking on continuous-measured hepatic fat in an asymptomatic study population.

Heavy alcohol consumption was positively associated with HFF and showed highest odds for FLD after adjustment for age, sex, BMI, hypertension, diabetes mellitus and smoking status. Moderate drinking was associated with higher HFF both in $^1\text{H-MRS}$ ($\beta=1.54$, $p=0.061$) and multi-echo Dixon ($\beta=1.75$, $p=0.050$) after adjustment. Referring to smoking, current smokers showed the lowest FLD prevalence and lowest odds for prevalent FLD. Former smokers had highest rates of HFF and significantly highest odds for FLD for both $^1\text{H-MRS}$ and MRI before adjustment.

In conclusion, our study revealed partly conflicting results with former literature, especially concerning moderate alcohol consumption. This underlines the necessity for further experimental and population-based studies to elucidate the complex mechanism of smoking and alcohol consumption on liver metabolism with dedicated, non-invasive MRI and $^1\text{H-MRS}$, as they are seen as the preferred imaging modalities in clinical studies.

With our newly evaluated three-step, MR-based approach for the assessment of hepatic steatosis we found a dedicated screening protocol for the detection and quantification of hepatic steatosis, which can be perfectly integrated in the clinical routine and study protocols.

7 Veröffentlichungen

7.1 Feasibility of a three-step magnetic resonance imaging approach for the assessment of hepatic steatosis in an asymptomatic study population

Hetterich, H., **Bayerl, C.**, Peters, A., Heier, M., Linkohr, B., Meisinger, C., Auweter, S., Kannengiesser, S. A., Kramer, H., Ertl-Wagner, B., Bamberg, F.

European Radiology, 2016. 26(6): p. 1895-904.

DOI: 10.1007/s00330-015-3966-y

Impact Factor 2016: 3,967

7.2 Alcohol consumption, but not smoking is associated with higher MR-derived liver fat in an asymptomatic study population

Bayerl, C., Lorbeer, R., Heier, M., Meisinger, C., Rospleszcz, S., Schafnitzel, A., Patscheider, H., Auweter, S., Peters, A., Ertl-Wagner, B., Reiser, M., Bamberg, F., Hetterich, H.

PLOS ONE, 2018. 13(2): p. e0192448.

DOI: [10.1371/journal.pone.0192448](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192448)

Impact Factor 2018: 2,776

8 Literaturverzeichnis

1. Reddy, J. K. and Rao, M. S., *Lipid metabolism and liver inflammation. II. Fatty liver disease and fatty acid oxidation*. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2006. **290**(5): p. G852-8.
2. Hamer, O. W., Aguirre, D. A., Casola, G., Lavine, J. E., Woenckhaus, M. and Sirlin, C. B., *Fatty liver: imaging patterns and pitfalls*. Radiographics, 2006. **26**(6): p. 1637-53.
3. Szczepaniak, L. S., Nurenberg, P., Leonard, D., Browning, J. D., Reingold, J. S., Grundy, S., Hobbs, H. H. and Dobbins, R. L., *Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2005. **288**(2): p. E462-8.
4. Browning, J. D., Szczepaniak, L. S., Dobbins, R., Nuremberg, P., Horton, J. D., Cohen, J. C., Grundy, S. M. and Hobbs, H. H., *Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity*. Hepatology, 2004. **40**(6): p. 1387-95.
5. Machado, M., Marques-Vidal, P. and Cortez-Pinto, H., *Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery*. J Hepatol, 2006. **45**(4): p. 600-6.
6. Ma, X., Holalkere, N. S., Kambadakone, R. A., Mino-Kenudson, M., Hahn, P. F. and Sahani, D. V., *Imaging-based quantification of hepatic fat: methods and clinical applications*. Radiographics, 2009. **29**(5): p. 1253-77.
7. Bedogni, G., Bellentani, S., Miglioli, L., Masutti, F., Passalacqua, M., Castiglione, A. and Tiribelli, C., *The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population*. BMC Gastroenterol, 2006. **6**: p. 33.
8. Fishbein, M., Castro, F., Cheruku, S., Jain, S., Webb, B., Gleason, T. and Stevens, W. R., *Hepatic MRI for fat quantitation: its relationship to fat morphology, diagnosis, and ultrasound*. J Clin Gastroenterol, 2005. **39**(7): p. 619-25.
9. Pozzato, C., Radaelli, G., Dall'Asta, C., Verduci, E., Villa, A., Villa, C., Scaglioni, S., Riva, E., Pontiroli, A. E., Cornalba, G. and Giovannini, M., *MRI in identifying hepatic steatosis in obese children and relation to ultrasonography and metabolic findings*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2008. **47**(4): p. 493-9.
10. Raptopoulos, V., Karellas, A., Bernstein, J., Reale, F. R., Constantinou, C. and Zawacki, J. K., *Value of dual-energy CT in differentiating focal fatty infiltration of the liver from low-density masses*. AJR Am J Roentgenol, 1991. **157**(4): p. 721-5.
11. Bohte, A. E., van Werven, J. R., Bipat, S. and Stoker, J., *The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis*. Eur Radiol, 2011. **21**(1): p. 87-97.
12. Runge, J. H., Bakker, P. J., Gaemers, I. C., Verheij, J., Hakvoort, T. B., Ottenhoff, R., Nederveen, A. J. and Stoker, J., *Measuring liver triglyceride content in mice: non-invasive magnetic resonance methods as an alternative to histopathology*. MAGMA, 2014. **27**(4): p. 317-27.
13. Pineda, N., Sharma, P., Xu, Q., Hu, X., Vos, M. and Martin, D. R., *Measurement of hepatic lipid: high-speed T2-corrected multiecho acquisition at 1H MR spectroscopy--a rapid and accurate technique*. Radiology, 2009. **252**(2): p. 568-76.
14. Thomsen, Carsten, Becker, Ulrik, Winkler, Kjeld, Christoffersen, Per, Jensen, Mikael and Henriksen, Ole, *Quantification of liver fat using magnetic resonance spectroscopy*. Magnetic Resonance Imaging. **12**(3): p. 487-495.
15. Weishaupt, D., Köchli, V.D. and Marincek, B., *Wie funktioniert MRI?: Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanzbildgebung*. 2013: Springer Berlin Heidelberg.

16. Cassidy, F. H., Yokoo, T., Aganovic, L., Hanna, R. F., Bydder, M., Middleton, M. S., Hamilton, G., Chavez, A. D., Schwimmer, J. B. and Sirlin, C. B., *Fatty liver disease: MR imaging techniques for the detection and quantification of liver steatosis*. Radiographics, 2009. **29**(1): p. 231-60.
17. Reeder, S. B., Cruite, I., Hamilton, G. and Sirlin, C. B., *Quantitative assessment of liver fat with magnetic resonance imaging and spectroscopy*. J Magn Reson Imaging, 2011. **34**(4): p. 729-49.
18. Bellentani, S., Saccoccio, G., Costa, G., Tiribelli, C., Manenti, F., Sodde, M., Saveria Croce, L., Sasso, F., Pozzato, G., Cristianini, G. and Brandi, G., *Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group*. Gut, 1997. **41**(6): p. 845-50.
19. Dunn, W., Xu, R. and Schwimmer, J. B., *Modest wine drinking and decreased prevalence of suspected nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2008. **47**(6): p. 1947-54.
20. Hamaguchi, M., Kojima, T., Ohbora, A., Takeda, N., Fukui, M. and Kato, T., *Protective effect of alcohol consumption for fatty liver but not metabolic syndrome*. World J Gastroenterol, 2012. **18**(2): p. 156-67.
21. Moriya, A., Iwasaki, Y., Ohguchi, S., Kayashima, E., Mitsumune, T., Taniguchi, H., Ando, M. and Yamamoto, K., *Roles of alcohol consumption in fatty liver: A longitudinal study*. J Hepatol, 2015. **62**(4): p. 921-7.
22. Gunji, T., Matsuhashi, N., Sato, H., Fujibayashi, K., Okumura, M., Sasabe, N. and Urabe, A., *Light and moderate alcohol consumption significantly reduces the prevalence of fatty liver in the Japanese male population*. Am J Gastroenterol, 2009. **104**(9): p. 2189-95.
23. Asvold, B. O., Bjorngaard, J. H., Carlslake, D., Gabrielsen, M. E., Skorpen, F., Smith, G. D. and Romundstad, P. R., *Causal associations of tobacco smoking with cardiovascular risk factors: a Mendelian randomization analysis of the HUNT Study in Norway*. Int J Epidemiol, 2014. **43**(5): p. 1458-70.
24. Bamia, C., Trichopoulou, A., Lenas, D. and Trichopoulos, D., *Tobacco smoking in relation to body fat mass and distribution in a general population sample*. Int J Obes Relat Metab Disord, 2004. **28**(8): p. 1091-6.
25. Hruskovicova, H., Duskova, M., Simunkova, K., Hill, M., Pospisilova, H., Racz, B., Kralikova, E., Vondra, K. and Starka, L., *Effects of smoking cessation on hormonal levels in men*. Physiol Res, 2013. **62**(1): p. 67-73.
26. Shimokata, H., Muller, D. C. and Andres, R., *Studies in the distribution of body fat. III. Effects of cigarette smoking*. JAMA, 1989. **261**(8): p. 1169-73.
27. Dare, S., Mackay, D. F. and Pell, J. P., *Relationship between smoking and obesity: a cross-sectional study of 499,504 middle-aged adults in the UK general population*. PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0123579.
28. Chavez-Tapia, N. C., Lizardi-Cervera, J., Perez-Bautista, O., Ramos-Ostos, M. H. and Uribe, M., *Smoking is not associated with nonalcoholic fatty liver disease*. World J Gastroenterol, 2006. **12**(32): p. 5196-200.
29. Yilmaz, Y., Yonal, O., Kurt, R. and Avsar, E., *Cigarette smoking is not associated with specific histological features or severity of nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology, 2010. **52**(1): p. 391; author reply 391-2.
30. Hamabe, A., Uto, H., Imamura, Y., Kusano, K., Mawatari, S., Kumagai, K., Kure, T., Tamai, T., Moriuchi, A., Sakiyama, T., Oketani, M., Ido, A. and Tsubouchi, H., *Impact of cigarette smoking on onset of nonalcoholic fatty liver disease over a 10-year period*. J Gastroenterol, 2011. **46**(6): p. 769-78.
31. Liu, Y., Dai, M., Bi, Y., Xu, M., Xu, Y., Li, M., Wang, T., Huang, F., Xu, B., Zhang, J., Li, X., Wang, W. and Ning, G., *Active smoking, passive smoking, and risk of*

- nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): a population-based study in China.* J Epidemiol, 2013. **23**(2): p. 115-21.
32. *KORA Kooperative Gesundheitsforschung in der Region Augsburg.* [cited 2018 September 22]; Available from: <https://www.helmholtz-muenchen.de/kora/index.html>.
 33. Bamberg, F., Hetterich, H., Rospleszcz, S., Lorbeer, R., Auweter, S. D., Schlett, C. L., Schafnitzel, A., Bayerl, C., Schindler, A., Saam, T., Muller-Peltzer, K., Sommer, W., Zitzelsberger, T., Machann, J., Ingrisch, M., Selder, S., Rathmann, W., Heier, M., Linkohr, B., Meisinger, C., Weber, C., Ertl-Wagner, B., Massberg, S., Reiser, M. F. and Peters, A., *Subclinical Disease Burden as Assessed by Whole-Body MRI in Subjects With Prediabetes, Subjects With Diabetes, and Normal Control Subjects From the General Population: The KORA-MRI Study.* Diabetes, 2017. **66**(1): p. 158-169.
 34. Ely, M., Hardy, R., Longford, N. T. and Wadsworth, M. E., *Gender differences in the relationship between alcohol consumption and drink problems are largely accounted for by body water.* Alcohol Alcohol, 1999. **34**(6): p. 894-902.
 35. Keil, U., Chambless, L. E., Doring, A., Filipiak, B. and Stieber, J., *The relation of alcohol intake to coronary heart disease and all-cause mortality in a beer-drinking population.* Epidemiology, 1997. **8**(2): p. 150-6.
 36. Wellmann, J., Heidrich, J., Berger, K., Doring, A., Heuschmann, P. U. and Keil, U., *Changes in alcohol intake and risk of coronary heart disease and all-cause mortality in the MONICA/KORA-Augsburg cohort 1987-97.* Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2004. **11**(1): p. 48-55.
 37. Di Castelnuovo, A., Costanzo, S., Bagnardi, V., Donati, M. B., Iacoviello, L. and de Gaetano, G., *Alcohol dosing and total mortality in men and women: an updated meta-analysis of 34 prospective studies.* Arch Intern Med, 2006. **166**(22): p. 2437-45.
 38. Bashir, M. R., Merkle, E. M., Smith, A. D. and Boll, D. T., *Hepatic MR imaging for in vivo differentiation of steatosis, iron deposition and combined storage disorder: single-ratio in/opposed phase analysis vs. dual-ratio Dixon discrimination.* Eur J Radiol, 2012. **81**(2): p. e101-9.
 39. Bashir, M. R., Zhong, X., Dale, B. M., Gupta, R. T., Boll, D. T. and Merkle, E. M., *Automated patient-tailored screening of the liver for diffuse steatosis and iron overload using MRI.* AJR Am J Roentgenol, 2013. **201**(3): p. 583-8.
 40. Bley, T. A., Wieben, O., Francois, C. J., Brittain, J. H. and Reeder, S. B., *Fat and water magnetic resonance imaging.* J Magn Reson Imaging, 2010. **31**(1): p. 4-18.
 41. Day, C. P. and Yeaman, S. J., *The biochemistry of alcohol-induced fatty liver.* Biochim Biophys Acta, 1994. **1215**(1-2): p. 33-48.
 42. Peres, W., Tunon, M. J., Collado, P. S., Herrmann, S., Marroni, N. and Gonzalez-Gallego, J., *The flavonoid quercetin ameliorates liver damage in rats with biliary obstruction.* J Hepatol, 2000. **33**(5): p. 742-50.
 43. Eliasson, B. and Smith, U., *Leptin levels in smokers and long-term users of nicotine gum.* Eur J Clin Invest, 1999. **29**(2): p. 145-52.
 44. Koopmann, A., Dinter, C., Grosshans, M., von der Goltz, C., Hentschel, R., Dahmen, N., Gallinat, J., Wagner, M., Grunder, G., Thurauf, N., Wienker, T., Brinkmeyer, J., Mobascher, A., Spreckelmeyer, K. N., Clepce, M., de Millas, W., Wiedemann, K., Winterer, G. and Kiefer, F., *Psychological and hormonal features of smokers at risk to gain weight after smoking cessation--results of a multicenter study.* Horm Behav, 2011. **60**(1): p. 58-64.
 45. Hofstetter, A., Schutz, Y., Jequier, E. and Wahren, J., *Increased 24-hour energy expenditure in cigarette smokers.* N Engl J Med, 1986. **314**(2): p. 79-82.
 46. Stadler, M., Tomann, L., Storcka, A., Wolzt, M., Peric, S., Bieglmayer, C., Pacini, G., Dickson, S. L., Brath, H., Bech, P., Prager, R. and Korbonits, M., *Effects of smoking*

- cessation on beta-cell function, insulin sensitivity, body weight, and appetite. Eur J Endocrinol, 2014. 170(2): p. 219-7.*
47. Cusi, K., *Nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes mellitus. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes, 2009. 16(2): p. 141-9.*
48. Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Charlton, M. and Sanyal, A. J., *The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. Hepatology, 2012. 55(6): p. 2005-23.*

9 Danksagung

Allen voran möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Fabian Bamberg und PD Dr. med. Holger Hetterich für die professionelle Zusammenarbeit, das Heranführen an das wissenschaftliche Arbeiten sowie für die allzeit geduldige und freundschaftliche Unterstützung in der Promotionszeit danken. Die intensive wissenschaftliche Betreuung hat die vorliegende Doktorarbeit und die zugrunde liegenden Veröffentlichungen ermöglicht.

Danken möchte ich Prof. Dr. med. Dr. h. c. Maximilian Reiser und Prof. Dr. med. Jens Ricke dafür, dass sie mir ermöglichen an der Klinik und Poliklinik für Radiologie zu promovieren.

Mein besonderer Dank gilt Dr. rer. med. Roberto Lorbeer, der mich bei statistischen Fragestellungen stets unterstützt und so zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Weiterhin danken möchte ich allen am KORA-Projekt Beteiligten, insbesondere Dr. rer. nat. Sigrid Auweter und Dr. rer. nat. Sonja Selder für die stets freundliche und produktive Zusammenarbeit.

Besonderer Dank gilt allen Ko-Autoren der vorliegenden Publikationen, die wesentliche Inhalte zum Gelingen beigetragen haben.

Herzlicher Dank gilt den auch am KORA-Projekt beteiligten Doktoranden Hannah Patscheider und Anina Schafnitzel für die stets hilfsbereite und freundschaftliche Zusammenarbeit.

Außerordentlicher Dank gilt meinen Eltern für ihre unermüdliche Geduld und Unterstützung während der Promotionszeit.