

Aus der Klinik für Innere Medizin II – Gastroenterologie und Endokrinologie
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar

***MBOAT7* und weitere Risikofaktoren für die Progression
der *PNPLA3*-assoziierten Steatohepatitis**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2020

vorgelegt von: Marie Schulte
geb. am: 22.12.1997
in Bourg-la-Reine

Tag der Promotion: 10.11.2020

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. Lammert
Prof. Dr. Flockerzi

***MBOAT7* und weitere Risikofaktoren für die Progression der *PNPLA3*-assoziierten Steatohepatitis**

Bisher konnte gezeigt werden, dass Träger des Adiponutrins (*PNPLA3*) Genotyps p.I148M ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer hepatischen Steatose und Fibrose haben (Krawczyk et al. *Journal of Lipid Research* 2018). In der Hochrisikogruppe der Patienten mit homozygoter p.I148M *PNPLA3*-Mutation ist die Steatose der Leber für die Prognose der Lebererkrankung von entscheidender Bedeutung. Andererseits wurde festgestellt, dass Mutationen im *MBOAT7*-Gen die Leberschädigung und -fibrose verstärken. Ziel dieser Arbeit ist daher die Analyse der Wirkung des *MBOAT7*-Risikoallels rs641738 und metabolischer Risikofaktoren auf die Steatose und Fibrose der Leber bei homozygoten Trägern des mutierten *PNPLA3*-Allels.

Insgesamt wurden 2.278 Patienten auf die *PNPLA3*-Variante getestet. Davon waren 152 Patienten (6,7%) homozygote Träger des *PNPLA3*-Risikoallels. Klinische, laborchemische und bildgebende Daten einschließlich der mittels transienter Elastographie bestimmten CAP (Controlled attenuation parameter zur Quantifizierung der Steatose) und LSM (Liver stiffness measurement zur Quantifizierung der Fibrose) wurden erhoben. Die Genotypisierung der *MBOAT7*-Variante rs641738 erfolgte durch Polymerase-Kettenreaktion-basierte allelische Diskriminierung. Die sich ergebenden Risikogruppen wurden bezüglich ihrer Phänotypen verglichen.

Die Fibrorestadien bei p.I148M-homozygoten Patienten mit nicht-alkoholischer Fettlebererkrankung waren mit metabolischen Risikofaktoren, aber nicht den *MBOAT7*-Genotypen assoziiert. Die Prävalenz von Zirrhose und hepatozellulärem Karzinom wurde ebenfalls nicht von der *MBOAT7*-Allelausprägung beeinflusst, jedoch ließ sich ein Rückgang der anhand des CAP gemessenen Steatose pro zusätzlich mutiertem *MBOAT7*-Allel nachweisen.

Da eine Abnahme der Steatose bei schon fortgeschrittener Lebererkrankung als prognostisch ungünstiges Zeichen gilt, könnten Patienten mit *PNPLA3*- und *MBOAT7*-Homozygotie eine vulnerable Patientengruppe mit nicht-alkoholischer Fettlebererkrankung darstellen, bei denen sich exogene Risiken besonders nachteilig auswirken.

***MBOAT7* and exogeneous risk factors in the progression of *PNPLA3*-associated steatohepatitis**

Carriers of the adiponutrin (*PNPLA3*) p.I148M genotype have an increased risk of hepatic steatosis and fibrosis (Krawczyk et al. *Journal of Lipid Research* 2018). Steatosis is a decisive marker for the prognosis of chronic liver diseases in the high-risk group of *PNPLA3* mutation carriers. Furthermore it was found that mutations in the *MBOAT7* gene worsen hepatic fibrosis and hepatocellular damage. Here we aim to investigate how the *MBOAT7* rs641738 variant and metabolic risk factors affect liver steatosis and fibrosis in patients who are homozygous carriers of the *PNPLA3* risk variant p.I148M.

In total, 2.278 patients were screened for the *PNPLA3* variant. Overall, 152 (6,7%) of these patients were homozygous carriers of the *PNPLA3* p.I148M genotype. Clinical, laboratory and imaging data were collected, including non-invasive liver stiffness measurements (LSM, marker of hepatic fibrosis) and controlled attenuation parameter (CAP, marker of hepatic steatosis) by transient elastography in all patients. *MBOAT7* rs641738 was genotyped using polymerase-chain-reaction-based allelic discrimination assays. The genotype to phenotype correlations of the resulting cohort were analysed.

The fibrosis stages in p.I148M homozygous patients with non-alcoholic fatty liver disease were associated with metabolic risk factors, but not with *MBOAT7* genotypes. The frequency of cirrhosis and hepatocellular carcinoma was not influenced by *MBOAT7* alleles either. However, a decrease of hepatic steatosis, as measured by CAP, per additionally mutated *MBOAT7* allele was found.

Since a decrease of steatosis in patients with advanced liver disease is considered as an unfavorable prognostic marker, patients with both homozygous mutated *PNPLA3* and *MBOAT7* allele could represent a vulnerable group of patients with non-alcoholic fatty liver disease in whom exogenous factors confer significant risk.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
Abstract	2
Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	7
1.1. <u>Definition</u>	7
1.2. <u>Pathogenese</u>	8
1.3. <u>Klinik und Sonderformen</u>	11
1.4. <u>Diagnostik</u>	13
1.5. <u>Differenzialdiagnosen</u>	16
1.6. <u>Therapie</u>	16
1.7. <u>Prognose</u>	17
1.8. <u>Fragestellung</u>	18
2. Patienten und Methodik	19
2.1. <u>Patienten</u>	19
2.2. <u>Genotypisierung</u>	20
2.3. <u>Laboruntersuchungen</u>	20
2.4. <u>Nicht-invasive Fibrose-Scores</u>	21
2.5. <u>Transiente Elastographie</u>	21
2.6. <u>Ultraschall</u>	23
2.7. <u>BMI, Diabetes mellitus Typ 2, arterielle Hypertonie und Ätiologie</u>	23
2.8. <u>Metabolisches Syndrom</u>	23
2.9. <u>Statistische Auswertung</u>	24
3. Ergebnisse	25
3.1. <u>Übersicht des Patientenkollektivs</u>	25
3.1.1. Grundlegende Patientendaten	25
3.1.2. Vorerkrankungen und Ätiologie	26
3.1.3. Diagnostische Verfahren	31
3.1.4. Komplikationen	35
3.1.5. Genotypverteilung	37

3.2. <u>Vergleich zwischen den Genotypen</u>	39
3.2.1. Laborparameter	39
3.2.2. Bildgebung.....	48
3.2.3. Komplikationen.....	51
3.3. <u>Weitere Faktoren</u>	54
3.3.1. Korrelationsanalyse	54
3.3.2. Regressionsanalyse.....	56
4. Diskussion	60
4.1. <u>Phänotypen der Kohorte</u>	60
4.2. <u>Art der Phänotypisierung</u>	61
4.3. <u>Komplikationen</u>	63
4.4. <u>MBOAT7-Risikogruppe</u>	63
4.5. <u>Schwächen der Arbeit</u>	64
4.6. <u>Schlussfolgerung und Ausblick</u>	64
Abbildungsverzeichnis	66
Tabellenverzeichnis	67
Literaturverzeichnis	68
Veröffentlichungen	70
Danksagung	71

Abkürzungsverzeichnis

ADP	Adenosindiphosphat
ALD	alcoholic liver disease, alkohol-bedingte Fettlebererkrankung
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	alkalische Phosphatase
APRI	AST to Platelet Ratio Index
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass Index
bzw.	beziehungsweise
CAP	controlled attenuation parameter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FFS	freie Fettsäuren
FIB4-Score	Fibrosis 4-Score
GGT	gamma-Glutamyltransferase
GWAS	genome wide association study, genomweite Assoziationsstudie
HCC	hepatocellular carcinoma, hepatozelluläres Karzinom
HS	Hepatopathie-Screening
INR	international normalized ratio
IQR	interquartile range, Interquartilabstand
LSM	liver stiffness measurement
MBOAT7	membrane bound o-acetyltransferase domain containing 7
MELD	model for end stage liver disease
NAFL	non-alcoholic fatty liver, nicht-alkoholische Fettleber
NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease, nicht-alkoholische Fettlebererkrankung
NAS	NAFLD activity score, NAFLD Aktivitätsgrad
NASH	non-alcoholic steatohepatitis, nicht-alkoholische Steatohepatitis
NFS	NAFLD fibrosis score, NAFLD-Fibrose-Score
PCR	polymerase chain reaction, Polymerase-Kettenreaktion
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain containing 3
ROS	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies

r_s	Spearman-Rang-Korrelation
SNP	single nucleotide polymorphism, Einzelnukleotid-Polymorphismus
TG	Triglycerid
VCTE	vibrationskontrollierte transiente Elastographie
VLDL	very low density lipoprotein
Zirrhose_AB	Zirrhose laut Arztbriefangabe

1. Einleitung

1.1. Definition

Fettlebererkrankungen werden formal unterteilt in alkohol-induzierte Fettlebererkrankung (alcoholic liver disease, ALD) und nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (non alcoholic fatty liver disease, NAFLD). Die Pathogenese beider Erkrankungen ist multifaktoriell und unterscheidet sich durch das zusätzliche Vorhandensein der schädigenden Wirkung eines Alkoholmissbrauchs. Diese Arbeit konzentriert sich auf die NAFLD (und weniger auf Alkohol als Risikofaktor für die Entstehung einer Fettlebererkrankung), um die genetischen Prädispositionen dieser Erkrankung zu verdeutlichen.

Die nicht-alkoholischen Fettlebererkrankungen umfassen ein sehr breites Spektrum an chronischen Leberkrankheiten mit vielen unterschiedlichen klinischen, biochemischen und histologischen Erscheinungsformen. Diese heterogene Gruppe beinhaltet sowohl die leichteste Ausprägung der nicht-alkoholischen Fettleber (non alcoholic fatty liver, NAFL) als auch den prognostisch ungünstigeren Phänotyp der nicht-alkoholischen Steatohepatitis (non alcoholic steatohepatitis, NASH) (27). Im Rahmen der NAFLD-Diagnostik definiert ein Steatosegrad der Leber von mindestens 5% des Organgewichts eine Fettleber (28). Diese kann durch portale und lobuläre Entzündungsherde, histologisch nachweisbar durch Balloonierungen und Mallori-Denk-Körperchen, in die NASH übergehen (27). Aus schon bestehenden Entzündungs- und beginnenden Fibrosierungsprozessen kann sich eine Zirrhose entwickeln und zunehmende Symptome hervorrufen. Die Umwandlung des Gewebes in Narbengewebe führt zu einem Funktionsverlust sowie einem Schrumpfen der Leber mit erheblichen Konsequenzen und höherer Morbidität bis hin zur Entstehung eines hepatozellulären Karzinoms (hepatocellular carcinoma, HCC) (12).

Die Prävalenz der NAFLD nimmt kontinuierlich zu. Als mittlerweile eine der am häufigsten auftretenden chronischen Lebererkrankungen ist sie zurzeit die Ursache von etwa 20% der Listungen zur Lebertransplantation (11). Diese zunehmenden Zahlen korrelieren mit einer steigenden Prävalenz von Adipositas und metabolischen Störungen, die in den Industrieländern durch hyperkalorische Ernährung und Bewegungsmangel verursacht werden. Die NAFLD betrifft in westlichen Ländern ungefähr 30% der erwachsenen Bevölkerung und 10% der Jugendlichen (27). Bei adipösen oder diabetischen Patienten liegt dieser Anteil noch viel höher.

1.2. Pathogenese

Bei der Entstehung der NAFLD ist das Zusammenspiel mehrerer gleichzeitig den Stoffwechsel und die Leber selbst betreffenden Faktoren ausschlaggebend. Neben geringer körperlicher Aktivität und hyperkalorischer Ernährung stellen unter anderem verschiedene Genvarianten einen weiteren begünstigenden Risikofaktor dar (12).

Einerseits spielen exogene Noxen eine destruktive Rolle. Das metabolische Syndrom ist die Folge multipler Faktoren, die den gesamten Stoffwechsel betreffen und deren Auswirkungen über das kardiovaskuläre System hinausreichen. Diese Risikofaktoren umfassen stammbetonte Adipositas, Dyslipoproteinämie, arterielle Hypertonie und Insulinresistenz bis hin zum Diabetes mellitus Typ 2 (24). Bei Patienten mit metabolischem Syndrom besteht ein größeres Risiko der Progression der nicht-alkoholischen Fettleber in eine Steatohepatitis mit Inflammation und Fibrose sowie für die Progression zur Zirrhose (18). In der Pathogenese der NAFLD spielt die Gewichtszunahme durch Bildung von zusätzlichem Fettgewebe eine wichtige Rolle. Ist diese Zunahme stark ausgeprägt und erfolgt sie innerhalb eines kurzen Zeitraums, kommt es zu einer vermehrten Entstehung von großen und unreifen, zum Teil auch funktionsgestörten Adipozyten, die zunehmend durch übermäßige Aufnahme von freien Fettsäuren zugrunde gehen (5). Diese Prozesse führen zu einer Entzündungsreaktion und zur Bildung zahlreicher Zytokine, die die Entwicklung einer Insulinresistenz begünstigen. Durch physiologisch gesteuerte Kompensationsmechanismen der Insulinresistenz wird die Leber nach und nach höheren Glukose- und Insulinspiegeln ausgesetzt. Durch die Abnahme der Fettspeicherkapazität der Adipozyten sind mehr freie Fettsäuren (FFS) im Umlauf. Diese müssen dann durch andere Gewebe, insbesondere von der Leber, aus dem Blutkreislauf entfernt und über Transporter in die Hepatozyten aufgenommen werden. Zusätzlich zur Aufnahme von freien Fettsäuren aus der Peripherie durch die Leber sind zwei andere Quellen an freien Fettsäuren vorhanden. Regulär durch die Nahrung aufgenommene Lipide werden ebenfalls zur Leber transportiert und dort verstoffwechselt. Die dritte Ursache für das steigende Angebot an freien Fettsäuren ist die in der Leber stattfindende de novo Lipogenese. Dieser physiologisch sonst weniger relevante Stoffwechselweg wird über Transkriptionsfaktoren (SREBP1 und ChREBP) induziert und kann bis zu 25% des gesamten Angebots an freien Fettsäuren darstellen. Abbildung 1 fasst diese Ursachen des FFS-Überangebots der Leber zusammen.

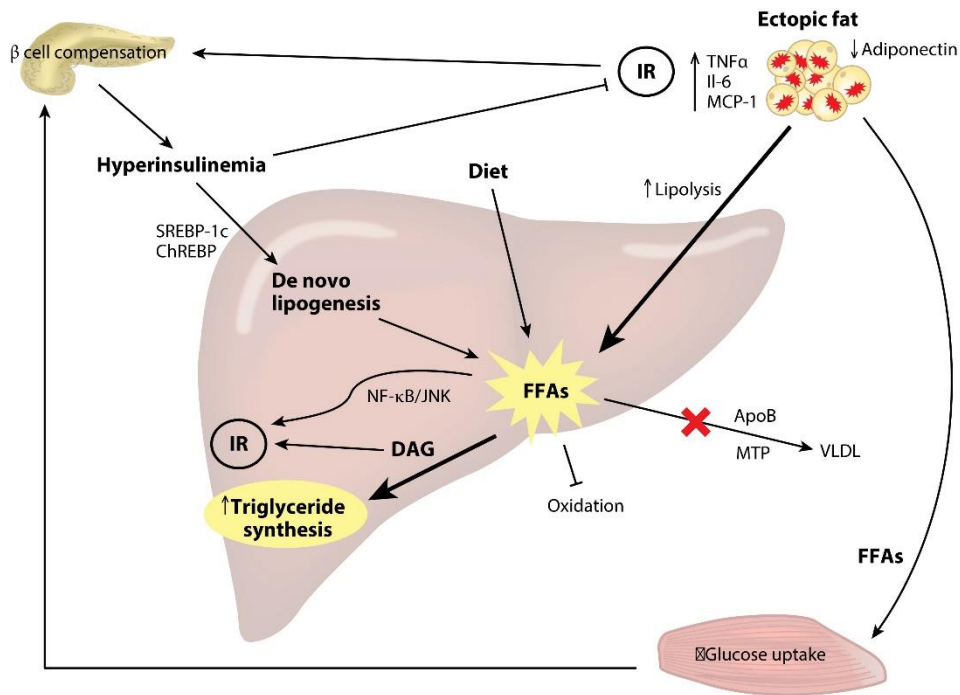


Abbildung 1 Übersicht der Interaktionen zwischen den NAFL-begünstigenden Faktoren. Vermehrte Lipolyse im peripheren Fettgewebe führt zur Freisetzung von Zytokinen, zur Aktivierung von Makrophagen und zu Insulinresistenz. Durch das Muskelgewebe aufgenommene FFS senken den Glukosebedarf der Muskelzellen und führen zu Hyperglykämien und über Kompensation durch pankreatische β -Zellen zu Hyperinsulinämien. Dadurch ist die Grundlage für eine de novo Lipogenese in der Leber gegeben, die zusätzlich zur Freisetzung von FFS aus dem Fettgewebe und zur durch Nahrung aufgenommene FFS das Angebot erhöhen. Aus dem FFS-Pool werden dann Triglyceride gebildet und intrazellulär gespeichert. Bei der Entstehung von Triglyceriden kommt es aber auch zur Bildung von Diacylglycerin, was im Zusammenspiel mit Entzündungsmediatoren eine Verschlechterung der hepatischen Insulinsensitivität hervorruft (Abbildung aus 10).

Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten der Verstoffwechslung dieses erhöhten Zuflusses an freien Fettsäuren. Die meisten FFS werden in den Mitochondrien durch β -Oxidation abgebaut. Das bestehende Überangebot an Substraten stresst die Mitochondrien und andere Organellen wie das endoplasmatische Retikulum sodass die Peroxisomen einen Teil des FFS-Stoffwechsels übernehmen (10). Dabei entstehen deutlich mehr reaktive Sauerstoffspezies (ROS), die die Hepatozyten zunehmend schädigen. Zusätzlich werden Triglyceride (TG) gebildet, die in vielen größeren oder kleineren Lipidtröpfchen innerhalb der Hepatozyten gespeichert werden. Durch diesen Prozess in großer Menge entstehende zelltoxische Zwischenprodukte wie Diacylglycerin führen zu vermehrter Zellschädigung. Das langfristige Überangebot an FFS, dem die Leber ausgesetzt ist, kann die Funktionen beeinträchtigen und häufig in einer Dekompensation der Leber münden. Als Reaktion auf diesen Zellschaden werden verschiedene Mechanismen des Zelltodes eingeleitet. Bei NASH-Patienten wurde eine Überexpression bestimmter Todesrezeptoren wie Fas und DR5 festgestellt (5). Werden diese Todesrezeptoren stimuliert erfolgt eine Apoptoseeinleitung in der Zelle. Weitere Zelltodmechanismen, wie Nekrose, Nekroptose und Autophagozytose, spielen bei der NAFLD ebenfalls eine Rolle (10). Durch diese Fluktuationen und dem

Untergang vieler Hepatozyten wird das Immunsystem aktiviert und Makrophagen und Kupfer-Zellen werden in die Leber rekrutiert. Diese triggern die Bildung von weiteren Zytokinen und Chemokinen, die die Entzündungsreaktionen begünstigen. Die Zuspitzung dieser Prozesse ist die Aktivierung der hepatischen Sternzellen. Diese bilden dann vermehrt Kollagen und leiten Fibrosierungs- und Remodellingsprozesse in der Leber ein.

Andererseits wurde im Rahmen von Studien in verschiedenen Bevölkerungsgruppen in den USA festgestellt, dass auch hereditäre NAFLD-begünstigende Faktoren die Genese dieser Erkrankung beeinflussen. Die Ausprägung der NAFLD war in den mittels Magnetresonanz-Spektroskopie untersuchten Gruppen unterschiedlich: Die Prävalenz der hepatischen Steatosis lag in der hispanischen Referenzgruppe bei 45%, in der Kohorte der Amerikaner europäischer Herkunft bei 33% und betrug 24% bei Amerikaner afrikanischer Abstammung (5). Das Vorhandensein einer genetischen Prädisposition hat sich bei einer genomweiten Assoziationsstudie (genome wide association study, GWAS) bestätigt. Die verschiedenen genetischen Veranlagungen der NAFLD können an mehrere Stellen des gesamten Pathomechanismus wirksam werden und den physiologischen Ablauf des Lipidmetabolismus, des Lipoproteintransports, der Cholesterinsynthese, der Fettspeicherung in den Hepatozyten und die Entstehung von oxidativem Stress und von Entzündungsreaktionen beeinflussen. In dieser Arbeit werden zwei dieser Genmutationen untersucht: Eine der wichtigsten Mutationen der NAFLD ist ein C>G Einzelnukleotid-Polymorphismus (rs738409 SNP, single nucleotide polymorphism) im Adiponutrin-Gen (patatin-like phospholipase domain containing 3, *PNPLA3*) (8). Dieses führt zu einer Aminosäuresubstitution (Ersatz von Isoleucin durch Methionin). Adiponutrin ist ein 481 Aminosäuren langes Enzym des Fettmetabolismus, dessen Funktion noch nicht vollständig geklärt ist (17). Es fungiert als Transmembranprotein in Hepatozyten, hepatischen Sternzellen, Adipozyten und in der Retina. Aus physiologisch zur Fettspeicherung vorhandenen Lipidtröpfchen können durch diese Mutation FFS schlechter mobilisiert werden. Eine Mutation im *PNPLA3*-Gen kann also eine verringerte Triglycerid- und Retinylpalmitatesterase-Aktivität verursachen, zur Ablagerung nicht funktionstüchtiger Enzyme auf der Oberfläche der Lipidtröpfchen und zur Bildung größerer Lipidtröpfchen in den Hepatozyten führen (8). Des Weiteren ist durch den Funktionsverlust von Adiponutrin eine Einschränkung anderer Lipasen bei der FFS-Freisetzung möglich. Die Mutation im *PNPLA3*-Gen erhöht die Prädisposition für eine Steatose in der Leber, unabhängig vom Vorliegen einer Insulinresistenz oder von Übergewicht (8). Die Mutation p.I148M des *PNPLA3*-Gens beeinflusst aber nicht nur die Steatose-tendenz der Leber, sondern fördert auch Fibrosierungsprozesse (18). Sie ist für die Entstehung und für die Progression einer NAFL verantwortlich sowie für den akzelerierten Verlauf anderer chronischer Lebererkrankungen wie Hepatitis B und C oder einer alkoholischen Steatohepatitis (16). Diese genetische Variante korreliert mit erhöhten Transaminaseaktivitäten im Serum. Das Labor kann aber ebenso unauffällig sein und die Erkrankung metabolisch unbemerkt verlaufen. Diese Mutation beeinflusst außerdem die Wirksamkeit verschiedener Therapien. Die Lebensstiländerung und

Gewichtsabnahme führen bei Trägern der Risikovarianten zu besseren Ergebnissen (5).

Eine weitere Veranlagung eine nicht-alkoholische Steatosis hepatis zu entwickeln stellt eine Mutation im *MBOAT7*-Gen (membrane bound o-acyltransferase domain containing 7) dar. Dieser rs641738 SNP erhöht die Tendenz zur Fibrose und Leberschädigung im Prozess einer NAFLD unabhängig von der *PNPLA3*-Allelausprägung sowie den Schweregrad einer alkohol-induzierter Leberzirrhose (20). Diese Mutation hat aber im Vergleich zur *PNPLA3*-Genmutation auch eine Wirkung auf dem Lipidstoffwechsel des Organismus, da es in der Sekretion von very low density lipoproteins (VLDL), also in dem Transport von körpereigenen Lipide, involviert ist (17).

Weitere Determinanten bei der Entstehung und Progression einer NAFLD sind epigenetische Faktoren. In der Epigenetik geht es um verschiedene Veränderungen, die nicht in der DNA kodiert sind, aber deren Expression steigern oder hemmen (1). In diesem Rahmen spielen unter anderem Methylierungsveränderungen an Genabschnitten mit multiplen Cytosin-Guanin-Sequenzen (vor allem in Genen des Lipidstoffwechsels oder der Reparatur- und Fibrosevorgänge) eine Rolle (5).

1.3. Klinik und Sonderformen

Nicht-alkoholische Fettlebererkrankungen entstehen also durch multiple, bis jetzt unvollständig geklärte und sich in ihre Wirkung verstärkende Mechanismen. Die dadurch bedingten Krankheitsbilder sind dementsprechend auch sehr unterschiedlich. Das Erkrankungsspektrum reicht von einer Leberverfettung bis hin zu Präkanzerosen. Ein Überblick dieser verschiedenen Subtypen vermittelt Abbildung 2.

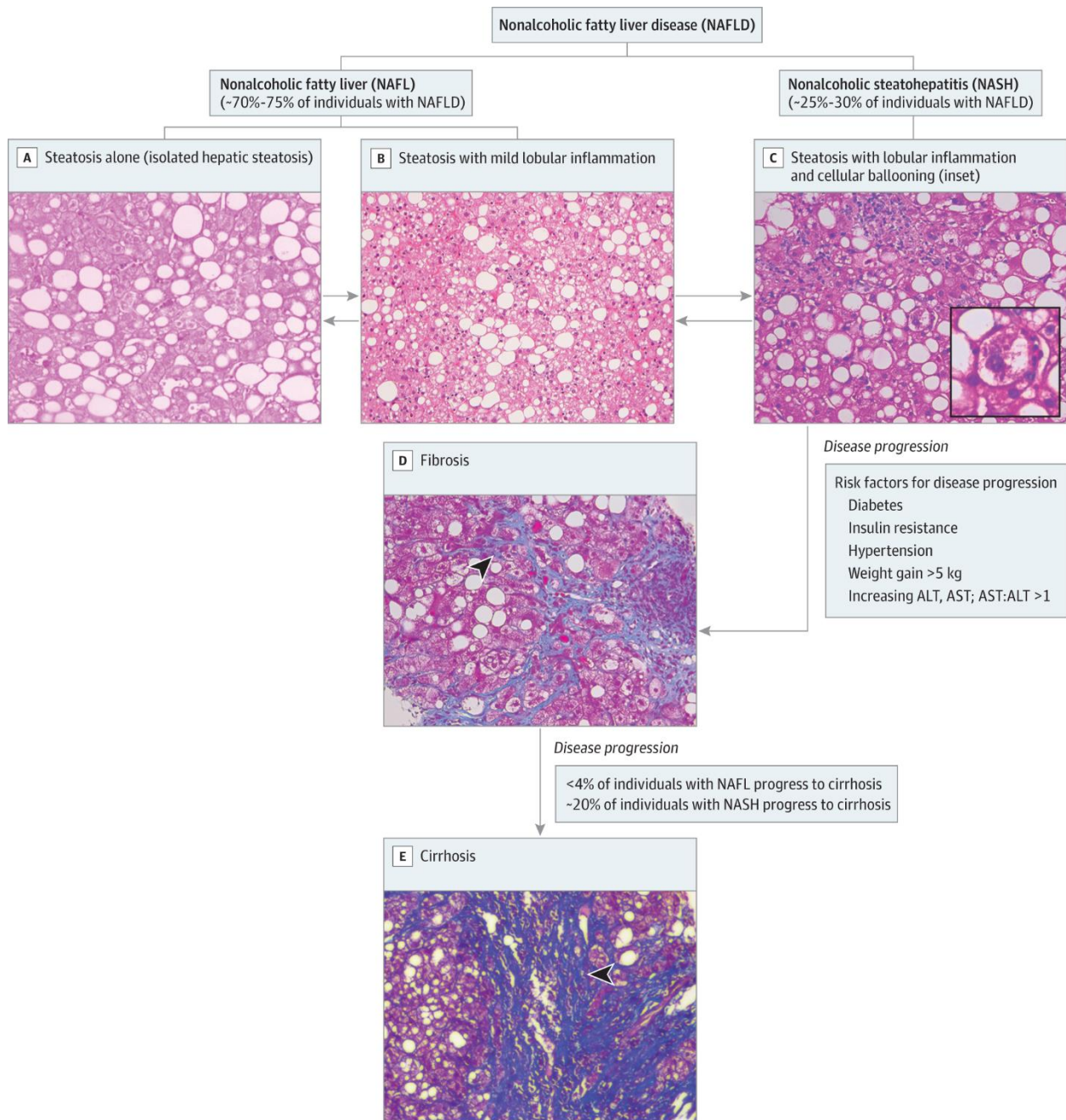


Abbildung 2 Verschiedene Subtypen der NAFLD und Zusammenhänge zur Progression der Erkrankung.

Die erste Differenzierung der NAFLD besteht zwischen den Krankheitsbilder der Steatose (NAFL) und der Steatohepatitis (NASH). Die Mehrzahl der Patienten ist von einer Steatose betroffen. Diese kann bei Fortschreiten von Entzündungsprozessen in eine Steatohepatitis übergehen. Bei mangelnder Therapie vor allem der metabolischen Risikofaktoren kann die Steatohepatitis weiter zur Fibrose und schließlich zur Zirrhose fortschreiten. Diese Zirrhose begünstigt dann die Ausbildung eines hepatozellulären Karzinoms (HCC) (Abbildung aus 24).

Die meisten von einer NAFLD-betroffenen Patienten entwickeln zuerst die leichteste Form der Erkrankung. 20 % der NAFL gehen in eine NASH über, davon führen wiederum 10-20 % zu eine Fibrose. Bei 5-10 % der Patienten mit einer Leberfibrose entsteht letztendlich eine Zirrhose (28). Da aber ein HCC im Rahmen einer NAFLD auch ohne Ausbildung einer Zirrhose entstehen kann, ist es

wichtig, bei von dieser Erkrankung betroffenen Patienten möglichst regelmäßig Krebsfrüherkennungsuntersuchungen durchzuführen (27). Histologisch imponieren eine „makrovesikuläre Steatose mit variablen Anteilen an Inflammation“ (27) und Ballonierungen, die bei der diagnostischen Diskriminierung zwischen dem Vorliegen einer reinen Steatose oder einer Steatohepatitis als wichtigstes Kriterium gilt.

1.4. Diagnostik

Um eine solch heterogene Gruppe an Erkrankungen erfassen zu können, müssen verschiedene diagnostische Methoden zusammen betrachtet werden. Die Beschwerden, die durch eine NAFLD hervorgerufen werden können, reichen von Symptombfreiheit oder unspezifische Symptomatik wie Müdigkeit und Druckgefühl im Oberbauch bis hin zu verschiedenen Symptome einer Zirrhose (28). Betrachtet man die Laborergebnisse der Patienten, können ebenfalls pathologische Befunde gefunden werden. Bei NAFLD-Patienten sind oft die Transaminasenaktivitäten im Serum (Aspartat-Aminotransferase oder AST und Alanin-Aminotransferase oder ALT) erhöht (28). Diese Aminosäurenstoffwechsel-regulierenden Enzyme der Hepatozyten werden bei Schädigung dieser Zellen freigesetzt, wodurch die Serumaktivitäten als Marker einer Leberzellschädigung fungieren. Es können aber auch erhöhte γ -Glutamyltransferase-Serumspiegel (GGT) vorhanden sein. Dieses in den Glutathion- und Aminosäuretransport involvierte Enzym ist ein sehr sensitiver Marker für Leber- oder Gallenwegserkrankungen. In bis hin zu 80% der Fälle ist der Laborbefund unauffällig und die Erkrankung verläuft biochemisch stumm ab (5). Zurzeit werden neue labordiagnostische Methoden zur Feststellung von NASH durch Biomarker entwickelt. Die Creatinkinase 18 ist ein Enzym, das die Reaktion aus Kreatinphosphat und Adenosindiphosphat (ADP) zu Kreatin und Adenosintriphosphat (ATP) katalysiert und bei Apoptosevorgängen in der Leber aus den Hepatozyten freigesetzt wird (25). Dadurch könnten unter NALFD-Patienten diejenigen Patienten mit einer NASH erkannt werden. Diese Methode wurde aber bis jetzt noch nicht standardisiert (es sind keine allgemein anerkannten cut-off-Werte bekannt) und ist auf dem Markt noch nicht erhältlich.

Goldstandard bei der Diagnose von NAFL ist aktuell die histologische Untersuchung eines Biopsats (28). Da dieses aber eine invasive diagnostische Methode ist, wird die Biopsie nur bei Risikopatienten ausgeführt. Die Risikostratifizierung der Patienten kann anhand von bestimmten Schemata bestimmt werden. Bei Ausschluss aller NAFLD-Differenzialdiagnosen können alle betroffenen Patienten beispielsweise in drei Risikogruppen eingeteilt werden (25). Bei Patienten mit niedrigem Risiko (ohne Adipositas, ohne metabolisches Syndrom, Alter unter 40 Jahre und mit niedrigen Fibrose-Scores) werden auf risikoärmeren diagnostischen Wegen Informationen zur vorliegenden Krankheit erhoben. Ab einem mäßigen bis hohen Risiko wird die Biopsie als Option gewertet, genauere Kontraindikationen oder weitere diagnostische Methoden müssten aber noch in Betracht gezogen werden. Weniger invasive Methoden und neue technische Vorgehensweisen eines NAFLD-Screenings spielen noch eine untergeordnete Rolle in der Sicherung der Diagnose dieser Erkrankung. Die Biopsie ermöglicht auch

eine genauere Verlaufskontrolle dieser potentiell progredienten Erkrankungen. Entzündungen, Fibrose, Remodelling und Übergang in Zirrhose oder HCC können im histologischen Bild besser erfasst und die Prognose genauer bestimmt werden. Das typische pathologische histologische Bild der NAFLD im Rahmen dieser Untersuchung ist eine Akkumulation gemischter makro- und mikrovesikulärer Lipidtropfen in den Hepatozyten (10), lobuläre und/oder portale Entzündungen und fakultative Fibrosierungsvorgänge in der Leber.

Eine andere Methode der Diagnostik stellen bildgebenden Verfahren dar. Mit einer Ultraschalluntersuchung können Leberverfettungen semiquantitativ erfasst werden. Dabei liegt aber der Vorhersagewert dieser Untersuchung bei 60-70% (28). Entzündungen und Fibrose bei NAFLD können mit der Sonographie nicht exakt identifiziert werden. Um das Spektrum möglicher bildgebender Verfahren zu erweitern und bei möglichen Risikopatienten ohne Biopsie trotzdem ein Einblick in die Progression der NAFLD zu bekommen, wurden weitere Methoden der Bildgebung entwickelt. Zum einen sind neuere Verfahren mithilfe von Magnetresonanztomografie verfügbar. Dabei wird die Anzahl der angeregten Protonen mit der Anzahl an angeregten Protonen im reinen Fettgewebe verglichen und der Verfettungsgrad der Leber somit berechnet (5). Eine andere neue Art der Bildgebung bei der NAFLD ist die Elastographie. Durch Kombination einer Ultraschalluntersuchung und Impulsgabe können Leberverfettung sowie Lebersteifigkeit gleichzeitig gemessen werden (Patienten und Methodik S.21).

Um eine bessere Übersicht über das Erkrankungsspektrum zu bekommen, werden zur Analyse und Klassifikation von histologischen Befunden verschiedene Scores berechnet. Diese ermöglichen eine genauere und objektivere Bestimmung des Aktivitätsgrades der NAFLD und sind bei der Einschätzung der Prognose hilfreich. Mikroskopisch beobachtete Phänomene können je nach Ausprägungsgrad eingeteilt werden. Dadurch entsteht ein Score zur Berechnung des NAFLD-Aktivitätsgrades (NAFLD activity score, NAS). Wie aus dem Artikel von Roeb et al. (26) zu entnehmen ist:

Tabelle 1 Bestimmung des NAFLD-Aktivitätsgrads (NAS) durch Bestimmung der Steatose-, Ballonierungs- und Entzündungsgrade (26)

NAS	Steatose (Prozent Fetteinlagerung in Hepatozyten)	Ballonierte Hepatozyten	Lobuläre Inflammation
0	<5 % (0)	keine (0)	keine (0)
3	5-33 % (1)	wenig (1)	1-2 Foci pro 20x-Feld (1)
6	34-66 % (2)	zahlreich (2)	2-4 Foci pro 20x-Feld (2)
8	>67 % (3)	zahlreich (2)	>4 Foci pro 20x-Feld (3)

Dieser Score ermöglicht die Berechnung der Aktivität der Erkrankung, kann aber nicht zur Verbesserung der Trennschärfe zwischen einer NAFL oder einer NASH benutzt werden, da bei einem NAS >5 nur bei 75 % der Fälle eine histologisch gesicherte NASH vorliegt (10). Zur Berechnung des wahrscheinlichen Vorliegens einer Fibrose bei NAFLD-Patienten ist außerdem ein weiterer Score gebildet worden. Der NAFLD-Fibrose-Score (NFS) beinhaltet die häufigsten Indikatoren und Risikofaktoren einer fortgeschrittenen Leberfibrose und berechnet sich anhand von Alter, BMI (oder Body-Mass-Index, als Quotient des Körpergewichts in kg durch die Größe zum Quadrat), Diabetes mellitus, AST/ALT Ratio, Thrombozytenzahl und Albuminspiegel. Dieser Score ermöglicht eine Einschätzung des Fibrorestadiums ohne Biopsie (24).

Um einen eventuell schon vorhandenen Übergang der NAFLD in eine Zirrhose zu erfassen, können auch zusätzlich diagnostische Wege eingeleitet werden. Die Berechnung des Child-Pugh-Scores kann den Schweregrad einer Zirrhose objektiv einschätzen. Es berechnet sich anhand der Albumin- und Bilirubinkonzentration, des Quickwerts und des Ausprägungsgrades einer hepatischen Enzephalopathie und einer Aszites. Anhand des Child-Pugh-Scores kann die Prognose sowie die 1-Jahres-Überlebenszeit eingeschätzt werden (27). Zur Objektivierung des Risikos einer Dekompensation in den nächsten drei Monaten bei Patienten mit fortgeschrittener Leberzirrhose kann ein zweiter Score hinzugezogen werden. Der MELD-Score (model for end stage liver disease) wird aus Bilirubin- und Serumkreatininspiegel sowie anhand des international normalized ratio (INR) bestimmt. Die Ergebnisse ermöglichen zudem auch die Einteilung der Patienten bei der Listung für eine Lebertransplantation, je höher das Ergebnis, umso unwahrscheinlicher ist das Überleben ohne Transplantation (27).

1.5. Differenzialdiagnosen

Die Diagnose einer NAFLD bleibt letztendlich eine auf klinischen, biochemischen und histologischen Befunden basierende Ausschlussdiagnose. Dabei müssen zwei wichtige Differenzialdiagnosen in Betracht gezogen werden: Bei der Einordnung dieser Erkrankung ist erstmal zu beachten, dass keine äthyltoxische Genese der Lebererkrankung vorliegt. Die Grenze liegt dabei bei 20 g bei Frauen und 30 g Alkohol pro Tag bei Männern (28). Überschreitet der Alkoholverbrauch diese Grenze, ist als Diagnose die häufigste Differenzialdiagnose der NAFLD die alkohol-bedingten Fettlebererkrankung zu diagnostizieren.

Eine weitere Ausschlussdiagnose ist die Entstehung einer Fettleber auf dem Boden einer schon bestehenden Erkrankung. Die Ursachen einer sekundären Lebersteatose werden eingeteilt je nachdem ob die daraus resultierende Steatose mit der Ansammlung kleiner (mikrovesikulär) oder großer (makrovesikulär) Lipidtropfen in den Hepatozyten verbunden ist. Bei einer mikrovesikulären Steatose kommen als Ursachen eine Hepatitis C, Virus-Infektionen, Morbus Wilson, Lipodystrophien, parenterale Ernährung oder Abetalipoproteinämie infrage. Bei Vorhandensein einer makrovesikulären Steatose würden Stoffwechselstörungen in Betracht gezogen werden (28). Bei regulärer Einnahme von hepatotoxischen Medikamenten (Amiodaron, Methotrexat, Valproinsäure oder antiretrovirale Substanzen) kann sich auch eine Steatose entwickeln, ohne dass diese der typischen Pathogenese der NAFLD unterliegt.

1.6. Therapie

Zur Therapie dieser chronischen Erkrankung wird als erstes eine Lebensstiländerung in Betracht gezogen. Da die am häufigsten zugrundeliegende Ursache der NAFLD ein metabolisches Syndrom ist, ist es auch wichtig, diese Risikofaktoren im Griff zu bekommen. Die Auswirkungen einer Gewichtsabnahme bei adipösen Patienten wurden histologisch untersucht und gesichert. Eine Reduktion des Körpergewichts um 7 % führe schon zur deutlichen Verbesserung vieler histologischer Merkmale der NAFLD (1). Um dieses zu erreichen können mehrere Diättypen ausgewählt werden. Die unterschiedliche Ausprägung im Langzeitverlauf zeigte, dass zum Beispiel eine Diät vom mediterranem Typ (reich an Ballaststoffen und mehrfach ungesättigten Fettsäuren) andere Ernährungsmethoden wie Kohlenhydraten-reduzierte Diät oder einer einfachen Reduzierung der Kalorienzufuhr überlegen ist. Eine mediterrane Ernährung reduziert den Steatosegrad unabhängig von der Gewichtsreduktion. Um eine deutliche Besserung der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung zu bewirken, muss die Gewichtsreduktion auch anhaltend sein. Ist diese Gewichtsabnahme anhand einer Lebensstiländerung und einer vermehrten körperlichen Tätigkeit (dabei beträgt die Mindestzeit an körperlicher Aktivität bei mindestens 250 Minuten in der Woche) nicht erreichbar, können auch bariatrische Operationen durchgeführt werden. Diese chirurgische Möglichkeit eine anhaltende Gewichtsabnahme zu erzielen, kann bei Patienten mit Misserfolg bei einer reinen Lebensstiländerung doch noch zur Besserung einer

bestehenden NAFLD helfen.

Eine pharmakologische Therapiemöglichkeit ist zurzeit nicht verfügbar. Die PIVENS-Studie untersucht die Wirksamkeit zweier Therapien (mit Vitamin E oder mit Pioglitazon) im Vergleich mit einem Placebo bei Patienten mit histologisch gesicherter NASH ohne Vorliegen eines Diabetes über 96 Wochen. Durch seine antioxidative Wirkung kann Vitamin E die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies in Peroxisomen oder die durch oxidativem Stress ausgelösten Zellschäden reduzieren. Es zeigte sich auch im Rahmen der PIVENS-Studie eine biologische und histologische Besserung (15). Bei dieser Therapie kam es nicht zur Beeinflussung der peripheren Insulinresistenz, und da längerfristige Wirkungen nicht bekannt sind, wird diese Therapie nicht empfohlen. Um die Insulinresistenz zu beeinflussen, wurde eine Therapie mit einem Insulinsensitizer, z.B. Pioglitazon, in Erwägung gezogen. Die Wirkung dieser Substanz geht unter anderem mit „Ausdifferenzierung von großen, unreifen und insulinresistenten Pre-Adipozyten in deren differenzierte und insulinsensitive Form“ einher (23). Durch Reduzierung kardiovaskulärer Schäden ermöglicht diese Therapieoption eine Verlängerung des Überlebens. Teils kontradiktorische Ergebnisse bei der PIVENS-Studie zeigten aber eine Tendenz zur Gewichtszunahme (zwischen 3 und 5 kg), wodurch es wiederum keine Empfehlung gibt, eine solche Therapie einzuleiten. Die genannten Substanzen zeigten außerdem keine Besserung der Fibrose.

1.7. Prognose

Die Prognose bei NAFLD korreliert stark mit dem in der Leber bestehenden Fibrorestadium. Es finden sich also relevante Unterschiede in der Prognose einer NASH im Vergleich mit der einer NAFL. „Die Fibrose ist zurzeit der wichtigste prädiktive Wert einer späteren Dekompensation und Mortalität der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankungen“ (24). Bisher konnten keine Verknüpfungen zwischen Scores, Berechnungen oder Laborwerten und der Prognose erkrankter Patienten gefunden werden, die die histologische Bestimmung des Fibrorestadiums ablösen könnten. Ein zusätzlicher Risikofaktor der Progression dieser chronischen Lebererkrankung ist der Nikotinkonsum, da er eine eventuell schon fortschreitende Leberfibrose noch unterstützen kann (26). Die häufigsten Todesursachen bei NAFLD-Patienten sind durch kardiovaskuläre Begleiterkrankungen bedingt (zu 13-30%), was ein wichtiges Merkmal dafür ist, dass es sich bei diesen Erkrankungen nicht um eine auf die Leber begrenzte Krankheit handelt. 6-28 % der betroffenen Patienten sterben an Malignomen. Durch die Leber selber verursachte Mortalität ist mit 3-19 % der betroffenen Patienten die dritthäufigste Todesursache (1).

1.8. Fragestellung

Die NAFLD ist ein zunehmendes medizinisches und gesundheitsökonomisches Problem, da im Rahmen einer erhöhten Prävalenz für das metabolische Syndrom und Adipositas die Prävalenz dieser Erkrankung steigt. Die NAFLD umfasst ein breites Spektrum an verschiedenen Formen und ist somit eine Herausforderung für Diagnostik und Therapie. Da die Möglichkeit von Screeningverfahren sowie einer erweiterten und genauen Diagnostik aller betroffenen Patienten durch eine Leberbiopsie nicht gegeben sind und zurzeit noch keine Therapien zur Behandlung der NAFLD zugelassen sind, ist es notwendig, mögliche Risikofaktoren und die Prädisposition für eine solche Erkrankung besser zu verstehen und die betroffenen Patienten regelmäßig mit nicht-invasiven Verfahren zu untersuchen. Unsere Hypothese ist, dass durch die genaue Untersuchung der Patienten auf Mutationen in den *PNPLA3*- und *MBOAT7*-Risikogenen eine genauere Risikoeinschätzung ermöglicht werden kann.

Ziel dieser Arbeit ist es diese Risikostratifizierung anhand verschiedener Parameter wie Lebersteifigkeit und Leberfunktion genauer vorzunehmen und mögliche Zusammenhänge zwischen *PNPLA3*-Homozygotie und *MBOAT7*-Mutationen aufzuzeigen.

2. Patienten und Methodik

2.1. Patienten

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurde eine Kohorte aus ambulanten und stationären Patienten der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikum des Saarlandes gebildet. Hierfür wurden Patienten aus abgeschlossenen Studien und unterschiedlichen Screeningverfahren bei Verdacht auf chronische Lebererkrankungen zusammengefasst. Das auf der p.I148M-Mutation des *PNPLA3*-Gens gestestete Kollektiv umfasste 2.278 Patienten. Davon waren 270 Patienten homozygote Träger der Mutation. Aus der hierdurch entstandenen Kohorte wurden Patienten ausgeschlossen:

- deren Blutproben zur Diagnosesicherung und Genotypisierung von extern nach Homburg geschickt worden waren,
- die keine Einträge oder keine Patientennummer im Datenbanksystem des Universitätsklinikums hatten,
- die keine transiente Elastographie-Untersuchung bekommen haben.

Die daraus entstehende Kohorte besteht aus 152 Patienten.

Die erste für diese Arbeit relevante Studie, aus welcher zwei Patienten meiner Kohorte kommen, ist die VDC-Studie. In dieser Publikation von Papapostoli et al. (22) ging es um die Fragestellung, ob eine optimale Einstellung der Vitamin-D-Serumkonzentration eine Auswirkung auf die hepatische Steatose bei NAFLD-Patienten hat. Die Einschlusskriterien dieser Studie waren die Fähigkeit die schriftliche Einverständniserklärung zu verstehen und zu unterschreiben, Volljährigkeit sowie eine elastographisch quantifizierte Dämpfung des Ultraschallsignals im Leberparenchym (Controlled attenuation parameter, CAP) > 280dB/m und ein Vitamin-D-Spiegel im Serum < 20ng/ml. Kriterien, die zum Ausschluss aus dieser Studie geführt haben, waren:

- Hyperkalziämie
- Hyperkalziurie
- Pseudoparathyreoidismus
- Tendenz zur Nierensteinbildung
- Erdnuss-, Soja- und Gelatineallergien
- Schwangerschaft
- Sarkoidose
- Chronische Nierenerkrankungen
- laufende Interferontherapie
- durch Fibroscan gesicherte Leberzirrhose mit einer Lebersteifigkeit (Liver stiffness measurement, LSM) > 13,0 kPa
- chronische Alkoholaufnahme von über 20 g/Tag bei Männern und über 10 g/Tag bei Frauen.

Drei weitere Patienten stammen aus einer Kohorte, die durch Zusammenlegen aller Patienten der Inneren Medizin II der Universität des Saarlandes, bei denen eine transiente Elastographie und eine Bioimpedanzanalyse durchgeführt wurden und bei denen zusätzlich Laborbefunde vorlagen.

Weitere in diese Arbeit eingeschlossene Patienten der Inneren Medizin II in Homburg sind anhand ihrer Verdachtsdiagnosen in unterschiedlichen Gruppen aufgeteilt worden:

In der LHomFor-Kohorte (Leberprojekt mit Unterstützung der Hom-For Forschungsförderung) sind Patienten mit durch Fibroscan bestätigte und/oder klinischen Zeichen einer Leberzirrhose eingeteilt worden. Diese Gruppe umfasste 28 Patienten.

60 zusätzliche Patienten stammen aus der FIB-Kohorte. Bei dieser Kohorte handelt es sich um ambulante und stationäre Patienten, bei denen der *PNPLA3*-Genotyp bei Verdacht auf NAFLD bestimmt worden ist.

Weitere 67 Patienten wurden bei Verdacht auf eine chronische Lebererkrankung im Rahmen des Hepatopathie-Screening (HS) erfasst. Dabei wurden genetische Prädispositionen durch die Bestimmung von Mutationen in dem *PNPLA3*- und *NOD2*-Genen untersucht.

Ein Patient wurde im Universitätsklinikum bei Verdacht auf Morbus Wilson untersucht. Später wurde der Patient auf die p.I148M Mutation im *PNPLA3*-Gen getestet.

2.2. Genotypisierung

Zur Bestimmung des *PNPLA3*- sowie *MBOAT7*-Genotyps wurden im Labor der Klinik für Innere Medizin II in Homburg Blutproben untersucht. Da der *MBOAT7*-SNP eine erst klinisch identifizierte genetische Variante die für NAFLD prädisponiert ist, wurde diese bei den Patienten, die noch nicht darauf untersucht worden waren, nachbestimmt. Die für diese Genotypanalyse angewandte Methodik folgte der Darstellung in der Publikation "Short-Term hypocaloric high fiber and high protein diet improves hepatic steatosis assessed by controlled attenuation parameter (Arslanow, 2016)" (3). Die Isolierung von Desoxyribonukleinsäure (DNA) erfolgte aus Ethylendiamintetraessigsäure-Blutröhrchen (EDTA). Die Genotypisierung wurde anhand einer Polymerase-Chain-Reaction-basierten (Polymeraseketten-Reaktion, PCR) Methode mit einer 5'-Nuklease und Fluoreszenzmarkierung durchgeführt.

2.3. Laboruntersuchungen

Die laborchemische Untersuchung von Blutproben der Patienten dieser Arbeit erfolgte als Routineuntersuchung und wurde vom Zentrallabor des Universitätsklinikum des Saarlandes durchgeführt. Für die Fragestellung relevante Aspekte waren hierbei die Leberfunktionsparameter im Serum wie ALT und AST als Marker einer Leberzellschädigung, GGT und alkalische Phosphatase (AP) zur Feststellung einer Cholestase und Albumin zur Abklärung einer hepatischen Synthesestörung. Andere Werte wie Cholesterin und Triglyceride ermöglichen die Erfassung von Veränderungen des Lipidmetabolismus. Die Normwerte entsprechen denen des Labors des Universitätsklinikums.

2.4. Nicht-invasive Fibrose-Scores

Zur besseren Einschätzung des Stadiums der Leberfibrose wurden anhand der Laboruntersuchungen zwei Fibrose-Scores berechnet. Der AST to Platelet Ratio Index-Score (APRI-Score) wurde anhand dieser Formel berechnet (14):

$$\text{APRI-Score} = ([\text{AST [U/L]}/\text{oberer Normwert für AST [U/L]}/ \text{Thrombozytenzahl [10}^9\text{/L]}) * 100.$$

Dieser Score konnte nur für 106 der 152 Patienten (69,7%) berechnet werden, da nicht alle notwendigen Werte bei allen Patienten vorhanden waren. Der obere Normwert wurde den im Zentrallabor des Universitätsklinikum des Saarlandes geltenden Normwerten angepasst: 50 U/L bei Männern und 35 U/L bei Frauen. Die daraus folgenden Ergebnisse wurden mithilfe der von Kim et al. (14) publizierten Grenzwerte analysiert: < 0,5 niedrige Wahrscheinlichkeit einer fortgeschrittenen Fibrose und > 1,5 hohe Wahrscheinlichkeit einer fortgeschrittenen Fibrose.

Der Fibrosis-4-Score (FIB4-Score) wurde anhand dieser Formel berechnet (14):

$$\text{FIB-4} = (\text{Alter [Jahre]} \times \text{AST [U/L]}) / (\text{Thrombozytenzahl [10}^9\text{/L]} \times (\text{ALT [U/L]})^{1/2}).$$

Es wurde ebenfalls für 106 Patienten berechnet, bei denen alle benötigten Angaben vorhanden waren. Die für die Bewertung des Scores benutzten Grenzwerte entsprechen den von Kim et al. (14) veröffentlichten Werten: < 1,30 niedriges, 1,30-2,67 mäßiges und > 2,67 hohes Risiko einer fortgeschrittenen Fibrose.

2.5. Transiente Elastographie

Durch die Entwicklung neuer nicht-invasiver Methoden zur Bestimmung der Lebersteifigkeit wurde die Diagnostik der NAFLD im Vergleich zur aktuell noch als Goldstandard geltenden histologischen Untersuchung einer Leberbiopsie deutlich risikoärmer. Dazu gehört die vibrationskontrollierte transiente Elastografie (VCTE). In der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikum des Saarlandes wird ein FibroScan der Firma Echosens Paris verwendet. Die Patienten dieser Arbeit untergingen zur Beurteilung der NAFLD einer VCTE-Messung.

Zur Durchführung dieser Untersuchung sollte laut Arslanow et al. (2) der Patient in Rückenlage untersucht werden. Der angewinkelte rechte Arm des Patienten wird unterhalb vom Kopf gelegt. Die Sonde wird vom Untersucher senkrecht auf Höhe des Xiphoids in der mittleren Axillarlinie, innerhalb eines Zwischenrippenraums rechts aufgelegt. Diese Positionierung der Sonde ermöglicht eine bessere Reproduzierbarkeit der Messung als auf subkostaler Ebene (7). Zur besseren Einstellung des zu analysierenden Gewebevolumens sollte der Patient in neutraler Stellung die Atmung anhalten. Da eine Nahrungsaufnahme durch eine postprandiale Erhöhung der Leberdurchblutung die Werte höher erscheinen lässt sollte der Patient zum Zeitpunkt der Untersuchung möglichst nüchtern sein (7). Um Messfehler vorzubeugen wird die nur wenige Minuten dauernde Messung nur durch für die Handhabung des Gerätes geschultem Personal

durchgeführt. Wichtig zu beachten sind die richtige Positionierung des Patienten und der Sonde, ein ausreichender Druck während der Messung und die Vermeidung von Interferenzen durch Rippenknochen (7). Die Messung beruht auf der Ausbreitung einer Scherwelle und der ultraschallbasierten Kontrolle der Amplitudenminderung durch die Leber. Die Auswahl der Sonde (hier M oder XL) ist für die Validität der Messungen entscheidend. Je nach anatomischer Gegebenheit ändert sich die Wahl der Messsonde (wobei die XL-Sonde für adipöse Patienten geeignet ist) und damit auch die Sendefrequenz: 3,5 MHz bei der M-Sonde, 2,5 MHz bei der XL-Sonde. Gemessen werden bei dieser Untersuchung die Verfettung (controlled attenuation parameter, CAP-Wert) sowie die Steifigkeit (LSM-Wert, liver stiffness measurement) des Leberparenchyms. Der CAP-Wert wird über die Dämpfung des von der Sonde gesendeten Signals beim Durchtritt des Gewebes ermittelt. Je stärker die Leberverfettung, umso rapider schrumpft die Ausgangsamplitude. Dieser Wert wird in dB/m gemessen, die Spannbreite der gemessenen Ergebnisse reicht von 100-400 dB/m. Ein Wert über 280 dB/m spricht laut Karlas et al. (13) für eine hepatische Steatose Grad 3. Die Elastizität bzw. die Steifigkeit der Leber hingegen wird aus der Geschwindigkeit der Ausbreitung der Scherwelle berechnet, in kPa angegeben und kann von 1,5 bis 75 kPa variieren. Je dichter das Gewebe, umso schneller breitet sich die Welle aus, erhöhte LSM-Werte entsprechen also einer stärkeren Leberfibrose (7). Als Normalwerte wurden Messwerte zwischen 3,0 und 75 kPa angenommen und laut Friedrich-Rust et al. (9) kann ab 13,0 kPa von zirrhotischen Veränderungen des Parenchyms ausgegangen werden. Dieser Wert ist für eine VCTE-Messung mit einer M-Sonde valide. Da bei der Mehrheit der Patienten (hier 73%) die M-Sonde angewandt wurde, wurde dieser Cut-off im Rahmen dieser Arbeit für alle Messungen benutzt. CAP und LSM werden gleichzeitig erfasst und beurteilen dementsprechend dasselbe Volumen. Der Medianwert, der Interquartilbereich (interquartile range, IQR) und der Quotient IQR/Medianwert aller CAP-Messungen werden bei gültigen Messungen automatisch neu berechnet (die Gültigkeit hängt von der Form und der Verbreitung der Scherwelle ab) (7). Faktoren wie eine akute Hepatitis, eine extrahepatische Cholestase (Erhöhung der CAP- und LSM-Werte) oder Adipositas und Aszites (schlechte Erfassung des darunterliegenden Lebergewebes) können die Ergebnisse beeinflussen (7). Da auch im Rahmen einer Untersuchung Störvariablen auftreten können, hat sich eine Zahl von mindestens 10 validen Messungen als weniger fehleranfällig erwiesen (2). Dementsprechend wurden bei allen in dieser Arbeit berücksichtigten Untersuchungen mindestens 10 valide Messungen hintereinander durchgeführt, davon abweichende VCTE-Messungen wurden nicht mit einbezogen. Wie in der „2015 EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines for non invasive test for evaluation of liver disease severity and prognosis“ (4) durchgeführten Analysen wurden außerdem nur diejenigen Untersuchungen berücksichtigt, die eine Rate an validen Messungen über 60 % und ein IQR/LSM-Verhältnis unter 30 % hatten. Insgesamt konnten 119 valide CAP-Messungen und 129 valide LSM-Messungen dokumentiert werden.

Laut Dietrich et al. (7) beträgt die Sensitivität der VCTE bei NAFLD zur Feststellung eines Fibrose Stadiums 3 85%, die Spezifität 82%. Zur Sicherung einer Zirrhose wird eine Sensitivität und Spezifität von 92% angegeben. Zur Darstellung eines Fibrorestadiums 2 ist diese Methode weniger genau (Sensitivität 79%, Spezifität 75%).

2.6. Ultraschall

Im Rahmen des Screenings auf NAFLD wurde bei der Mehrzahl (87 Patienten, 57,2%) eine Ultraschalluntersuchung durchgeführt. Die Leberparenchymveränderungen wurden anhand der Echogenitätsunterschiede erfasst und wie folgt eingeteilt:

- 2 entspricht einer Steatose Grad 1
- 3 entspricht einer Steatose Grad 1-2
- 4 entspricht einer Steatose Grad 2
- 5 entspricht einer Steatose Grad 2-3
- 6 entspricht einer Steatose Grad 3

Dieses ermöglicht einen Vergleich mit den Ergebnissen der transienten Elastographie.

Bei Beschreibung einer hepatischen Steatose ohne weitere Spezifizierung der Gradeinteilung wurde diese als die leichte Form (Grad 1) der Steatose in die Berechnung der Ergebnisse miteinbezogen.

2.7. BMI, Diabetes mellitus Typ 2, arterielle Hypertonie und Ätiologie

Zur Festlegung relevanter Vorerkrankungen (arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus), des Ernährungsstatus der Patienten, der Ätiologie sowie eines HCC oder einer Zirrhose als Folgeerkrankungen wurden die Arztbriefe, im SAP-Datenbanksystem des Universitätsklinikum des Saarlandes (SAP ISH-med, SAP Deutschland, Walldorf) berücksichtigt.

Für die Vorerkrankungen Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie galt das Fehlen einer Angabe zum Vorliegen dieser Erkrankungen als nicht Vorhandensein dieser Erkrankung. Bei der Angabe einer Ätiologie wurde zwischen ALD und NAFLD einerseits und anderen Ursachen andererseits unterschieden. Unter den weiteren Ätiologien befinden sich virale Hepatitiden, Autoimmunhepatitiden, familiäre Cholestase, Budd-Chiari-Syndrom, Sarkoidose, Hämochromatose, alpha-1-Antitrypsinmangel, M. Wilson und die IgG4-assoziierte Erkrankungen.

2.8. Metabolisches Syndrom

Per Definition fließen mehrere Kriterien in die Diagnosestellung eines metabolischen Syndroms mit ein. In dieser Arbeit wurde ein Score mit all diesen Kriterien berechnet um das Vorliegen eines metabolischen Syndroms zu evaluieren. Bei Vorliegen von Cholesterin- und Triglyceridwerte oberhalb der vom Labor angegebenen Normwerte (Cholesterin > 200 mg/dl und Triglyceride > 150 mg/dl) wurde jeweils ein Punkt vergeben. Bei Adipositas, bekanntem Diabetes mellitus oder arterieller Hypertonie wurde ebenfalls ein Punkt vergeben. Nicht vorhandene Angaben wurden mit einer nicht vorliegenden Abweichung von der Norm bzw. einer nicht vorhandenen Erkrankung gleichgestellt und somit mit 0 Punkte im Score berücksichtigt.

2.9. Statistische Auswertung

Die Auswertung des Datensatzes erfolgte mit SPSS für Windows (Version 24, IBM, Armonk, USA). Die deskriptive Statistik wurde anhand von Häufigkeitstabellen durchgeführt. Dazu wurden Lage- sowie Streumaße verwendet. Anschließend wurden alle Daten auf Normalverteilung getestet. Dazu wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test angewandt. Wegen negativer Testergebnisse und des Vorhandenseins von mehr als zwei unverbundenen Gruppen (bei dem Genotypvergleich) wurden ein χ^2 -Test bei qualitativen oder ein Kruskal-Wallis-Test bei quantitativen Merkmalen eingesetzt. Bei Genotypgruppierungen zur besseren Risikoeinschätzung (Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote; bzw. Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung) erfolgte ein Mann-Whitney-U-Test, da nur noch zwei unverbundene Gruppen verglichen wurden.

Zur graphischen Darstellung der Variablen und Zusammenhänge wurden Boxplots, Kreisdiagramme, Balkendiagramme und Histogramme verwendet.

Zur Prüfung möglicherweise vorliegender linearer Zusammenhänge erfolgten lineare Regressionsanalysen, bei der zuerst univariat und anschließend multivariat getestet wurde. Die Korrelationstestung wurde zur Analyse der Zusammenhänge zwischen den Variablen eingesetzt. Dieses erfolgte mittels Spearman-Rang-Korrelation (r_s), die keine Normalverteilung der getesteten Variablen voraussetzt. Die darausfolgenden Werte variieren zwischen -1 (negativer Zusammenhang) und 1 (positiver Zusammenhang).

Ziel dieser Analyse war die Testung von Zusammenhängen zwischen Genotyp und Laborergebnissen, Bildgebung sowie Komplikationen und die Mitwirkung der sämtlichen Risikofaktoren.

3. Ergebnisse

3.1. Übersicht des Patientenkollektivs

3.1.1. Grundlegende Patientendaten

Die untersuchte Kohorte umfasst 152 Patienten. Wie in Tabelle 2 ersichtlich, besteht das Kollektiv aus 86 Männern und 66 Frauen. Dementsprechend repräsentieren Männer 57% und Frauen 43% der Kohorte.

Tabelle 2 Häufigkeitstabelle Geschlecht

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Mann	86	56,6	56,6	56,6
	Frau	66	43,4	43,4	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

Das Alter wurde zum Zeitpunkt der Entnahme der für die Genotypisierung benutzten Blutproben festgelegt. Die Spannweite der Altersverteilung der 152 Patienten variiert zwischen 19 Jahren für den jüngsten und 83 Jahren für den ältesten Patienten. Das daraus resultierende Durchschnittsalter ist 53 Jahre (55 Jahre bei den Männern, 50 Jahre bei den Frauen) (Abb. 3).

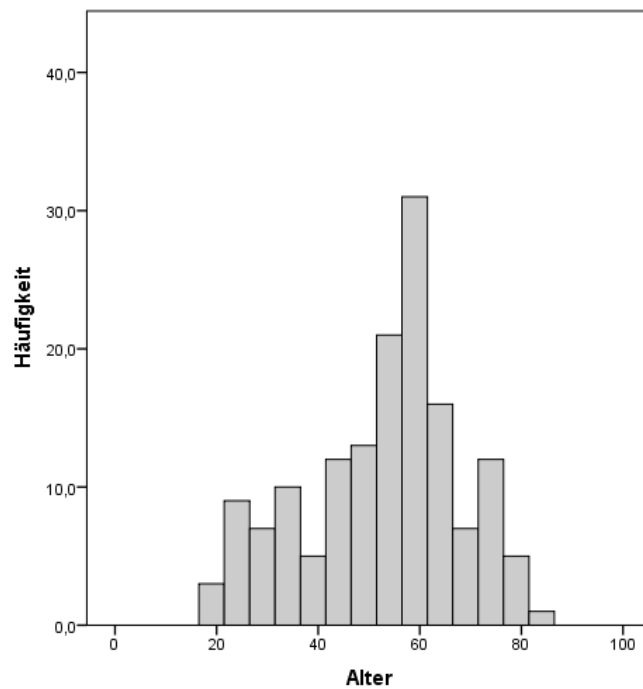


Abbildung 3 Histogramm der Altersverteilung des Patientenkollektivs. In der Y-Achse sind die Häufigkeiten dargestellt, in der X-Achse ist das Alter aufgetragen. In dieser Graphik sind alle 152 Patienten dargestellt.

3.1.2. Vorerkrankungen und Ätiologie

Weitere Angaben zum Patientenkollektiv betreffen das Vorhandensein relevanter Vorerkrankungen, die zur Entstehung einer NAFLD beitragen sowie eine eventuell vorhandene andere Ätiologie der Lebererkrankung. Die in Tabelle 3 beschriebenen Gewichtsklassen (Untergewicht, Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas) wurden 104 der 152 Patienten (68%) entsprechend der Angaben zum Ernährungszustand klassifiziert. Bei 48 Patienten fehlt diese Angabe. Drei Patienten sind untergewichtig, also 3% des Kollektivs. Zur Gewichtskategorie Normalgewicht gehören 23 Patienten, dies repräsentiert 22% der angegebenen Patienten. In den Kategorien Übergewicht und Adipositas befinden sich jeweils 27 Patienten (26%) und 51 Patienten (49%).

Tabelle 3 Häufigkeitstabelle BMI

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Untergewicht	3	2,0	2,9	2,9
	Normalgewicht	23	15,1	22,1	25,0
	Übergewicht	27	17,8	26,0	51,0
	Adipositas	51	33,6	49,0	100,0
	Gesamt	104	68,4	100,0	
Fehlend	keine Angabe	48	31,6		
Gesamt		152	100,0		

Abbildungen 4 und 5 zeigen das Überwiegen der zwei Gewichtsklassen „Übergewicht“ und „Adipositas“, sowohl bei Männern (insgesamt 73%) als auch bei Frauen (insgesamt 78%).

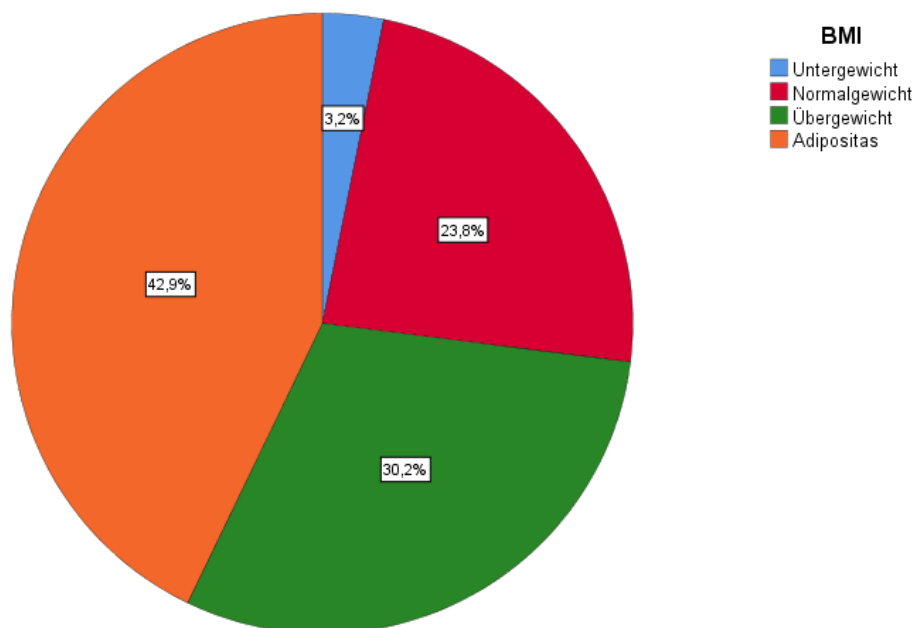


Abbildung 4 Kreisdiagramm zur Verteilung der Gewichtsklassen anhand des BMI bei den Männern.

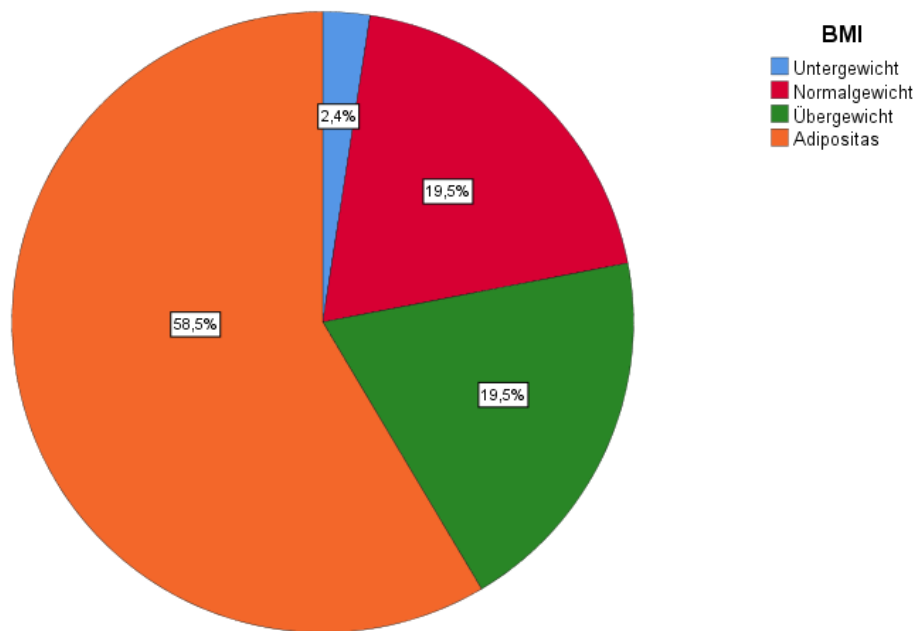


Abbildung 5 Kreisdiagramm zur Verteilung der Gewichtsklassen anhand des BMI bei den Frauen.

Tabelle 4 verdeutlicht das Vorhandensein oder das Nicht-Vorhandensein eines Diabetes mellitus Typ 2. 30 Patienten (20%) haben ein Diabetes mellitus Typ 2, 122 Patienten (80%) sind von dieser Erkrankung nicht betroffen.

Tabelle 4 Häufigkeitstabelle Diabetes mellitus Typ 2

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	nein	122	80,3	80,3	80,3
	ja	30	19,7	19,7	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

Tabelle 5 zeigt die Daten zur arteriellen Hypertonie. 42 Patienten (28%) haben eine arterielle Hypertonie, 110 Patienten (72%) leiden nicht an dieser Erkrankung.

Tabelle 5 Häufigkeitstabelle arterielle Hypertonie

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	nein	110	72,4	72,4	72,4
	ja	42	27,6	27,6	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

Tabelle 6 fasst die Daten zum metabolischen Syndrom zusammen. Ein Score wurde bei allen Patienten berechnet, trotz möglicherweise fehlender Angaben, die als „kein Kriterium erfüllt“ klassifiziert wurden.

Tabelle 6 Häufigkeitstabelle metabolisches Syndrom

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	kein Wert vorhanden / kein Kriterium erfüllt	48	31,6	31,6	31,6
	1/5	48	31,6	31,6	63,2
	2/5	35	23,0	23,0	86,2
	3/5	14	9,2	9,2	95,4
	4/5	6	3,9	3,9	99,3
	5/5	1	0,7	0,7	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

48 Patienten haben jeweils ein Wert von null sowie ein Kriterium von fünf erfüllt, dies entspricht jeweils 32% der Kohorte. 35 weitere Patienten erfüllen zwei von fünf Kriterien (23%). 9% der Patienten erfüllen drei von fünf Kriterien (14 von 152 Patienten), 4% erfüllen vier von fünf Kriterien (6 Patienten). Ein einziger Patient erfüllte alle Kriterien des metabolischen Syndroms (Abb. 6).

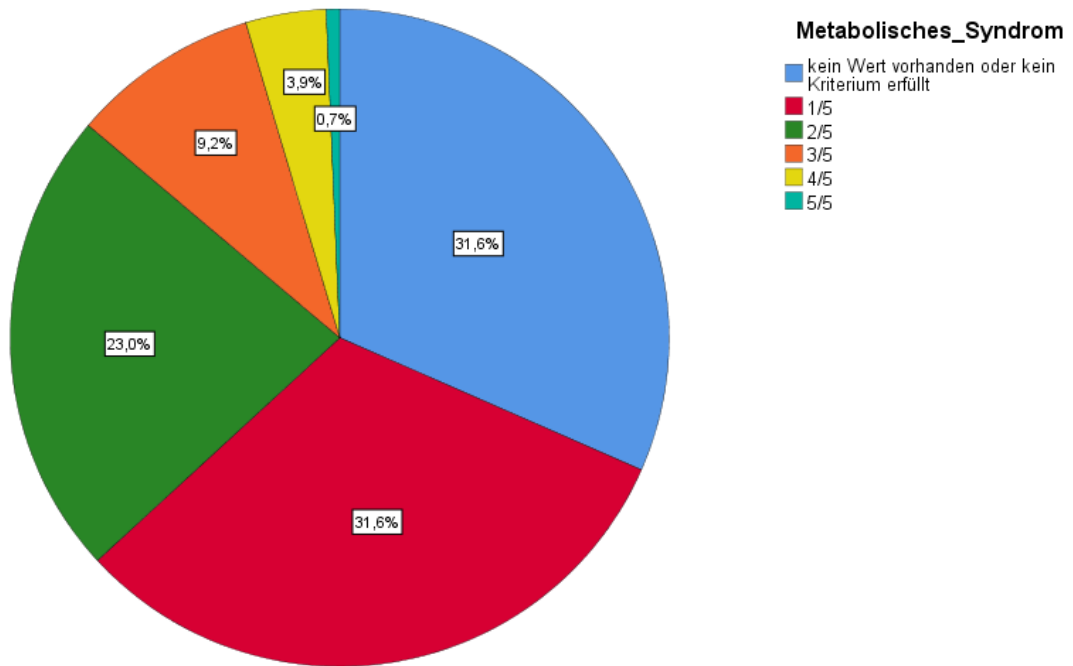


Abbildung 6 Kreisdiagramm metabolisches Syndrom.

Wie Tabelle 7 zu entnehmen, kann bei 111 Patienten von einer äthyltoxischen oder einer nicht-alkoholbedingten Fettlebererkrankung ausgegangen werden, dies repräsentiert 73% der Kohorte. Bei den übrigen Patienten lagen andere Krankheitsursachen vor (41 von 152 Patienten, entsprechend 27% der Kohorte).

Tabelle 7 Häufigkeitstabelle Ätiologie

	Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig andere Ätiologie	41	27,0	27,0	27,0
Alkohol oder NAFLD	111	73,0	73,0	100,0
Gesamt	152	100,0	100,0	

3.1.3. Diagnostische Verfahren

Da für die in Tabelle 8 und 9 dargestellten Laborwerte der physiologische Normbereich geschlechtsabhängig ist, wurde die deskriptive statistische Auswertung in zwei Tabellen aufgetrennt.

Tabelle 8 Laborwerte für Männer

	N	Normwert	Minimum	Maximum	Median
ALT (U/l)	85	10-50	11	448	51
AST (U/l)	59	10-50	19	114	44
AP (U/l)	85	40-129	41	578	85
GGT (U/l)	84	<60	16	1986	123

Für Männer liegt der ALT-Referenzbereich zwischen 10 und 50 U/l. Die 85 vorhandenen Werte variieren von 11 bis 448 U/l und zeigen einen Medianwert von 51 U/l. Dieser liegt oberhalb des Normbereichs. Die AST-Serumaktivitäten unterliegen den gleichen Referenzwerten wie die ALT-Aktivitäten. Die Spannweite der 59 gemessenen AST-Werte reicht von 19 bis 114 U/l mit einem Medianwert von 44 U/l, der im Referenzbereich liegt. Es wurde bei 85 Patienten die AP-Serumaktivität bestimmt, die Ergebnisse nehmen einen minimalen Wert von 41 U/l und einen maximalen Wert von 578 U/l an. Der Median ist 85 U/l und liegt damit im Normbereich von 40-129 U/l. Die GGT-Serumaktivitäten sollten normalerweise einen Wert unter 60 U/l annehmen. In der analysierten Kohorte haben 84 Patienten eine Serumaktivität, die von 16 bis 1986 U/l variiert, und einen im Vergleich zum Normwert sehr hohen Medianwert von 123 U/l aufweist.

In Tabelle 9 sind die Ergebnisse derselben Laboruntersuchungen bei Frauen dargestellt.

Tabelle 9 Laborwerte für Frauen

	N	Normwert	Minimum	Maximum	Median
ALT (U/l)	61	10-35	10	194	42
AST (U/l)	51	10-35	16	140	37
AP (U/l)	61	35-104	36	299	77
GGT (U/l)	60	<40	10	396	61

Bei 61 Frauen wurde die ALT-Serumaktivität gemessen. Diese nimmt Werte zwischen 10 und 194 U/l an, mit einem Medianwert von 42 U/l. Dieser Wert ist im Vergleich zum Referenzbereich von 10 bis 35 U/l leicht

erhöht. Die AST-Serumaktivitäten bei den 51 Untersuchungen liegen zwischen 16 und 140 U/l mit einem hier ebenfalls geringfügig erhöhtem Medianwert von 37 U/l. Die Normwerte bei der Untersuchung der AP-Serumaktivität liegen zwischen 35 und 104 U/l. Bei den bei dieser Kohorte durchgeführten Untersuchungen liegen das Minimum bei 36 U/l, das Maximum bei 299 U/l und der Median bei 77 U/l. Die bei der GGT-Messung physiologisch unter 40 U/l liegenden Aktivitäten gehen hier von 10 bis 396 U/l (Medianwert 61 U/l).

In Tabelle 10 sind weitere Laborwerte dargestellt, bei denen der Referenzbereich geschlechtsunabhängig ist.

Tabelle 10 Weitere Laborparameter

	N	Normwert	Minimum	Maximum	Median
Thrombozyten ($10^9/l$)	141	140-400	27	394	185
Albumin (g/l)	129	35-52	22	54	44
Cholesterin (mg/dl)	91	<200	57	396	193
TG (mg/dl)	90	<150	27	1059	116

Die Thrombozytenzahl sollte zwischen 140 und 400 x $10^9/l$ liegen. Diese liegt bei den 141 untersuchten Patienten zwischen 27 und 394 x $10^9/l$, der Medianwert bei 185 x $10^9/l$. Die 129 gemessenen Albumin-Serumkonzentrationen liegen zwischen 22 und 54 g/l mit einem Medianwert von 44 g/l (Normbereich 35-52 g/l). Für die 91 Cholesterin-Serumkonzentrationsmessungen gibt das Labor einen oberen Grenzwert von 200 mg/dl an. In dieser Kohorte variieren die Werte von 57 bis 396 mg/dl. Der Median beträgt 193 mg/dl und liegt somit unterhalb der oberen Grenze des Normbereichs. Der normalerweise unter 150 mg/dl liegende Triglycerid-Spiegel variiert von 27 bis 1059 mg/dl mit einem Median von 116 mg/dl.

Tabelle 11 fasst die jeweiligen Ergebnisse der beiden Scores, die anhand der Laborbefunde bei 106 Patienten berechnet wurden zusammen. Die Ergebnisse des ersten Scores (FIB4) liegen zwischen 0,26 und 14,22 mit einem Medianwert von 1,39, die des APRI-Scores zwischen 0,15 und 6,25 mit einem Medianwert von 0,52. Die Ergebnisse im FIB4-Score zeigen, dass 50 von 106 Patienten eine niedrige (Ergebnis <1,30), 19 Patienten eine mäßige (Ergebnis zwischen 1,30 und 2,67) und 37 Patienten eine hohe Wahrscheinlichkeit (Ergebnis >2,67) haben, eine fortgeschrittene Fibrose zu haben. Im Gegensatz dazu haben im APRI-Score 52 Patienten ein niedriges (Ergebnis <0,5) und sieben der 106 Patienten ein hohes Risiko (Ergebnis >1,5) einer fortgeschrittenen Fibrose.

Tabelle 11 Berechnete Fibrose-Scores

	N	Minimum	Maximum	Median
FIB_4	106	0,26	14,22	1,39
APRI_Score	106	0,15	6,25	0,52

Eine Übersicht zu den Messungen der bildgebenden diagnostischen Verfahren erfolgte anhand der in Tabelle 12 aufgeführten Werte. Die im Rahmen der VCTE bei 119 Patienten gemessenen CAP-Werte gehen von 100 bis 400 dB/m. Der Medianwert liegt bei 279 dB/m. Es sind 129 LSM-Werte vorhanden, diese variieren von 2 bis 75 kPa mit einem Medianwert von 12 kPa. Die im Ultraschall bei 87 Patienten bewertete hepatische Steatose wurde wie im Abschnitt Ultraschall (Patienten und Methodik, S. 23) eingeteilt. Der dabei gemessene Steatosegrad geht von dem minimalen Wert 2 zum höchstmöglichen Wert 6, der Medianwert liegt bei 4.

Tabelle 12 Bildgebende diagnostische Verfahren

	N	Minimum	Maximum	Median
CAP	119	100	400	279
LSM	129	2	75	12
Steatosegrad_Sono	87	2	6	4

Abbildung 7 verdeutlicht die Verteilung aller CAP-Werte, die im Rahmen der 119 Untersuchungen gemessen wurden.

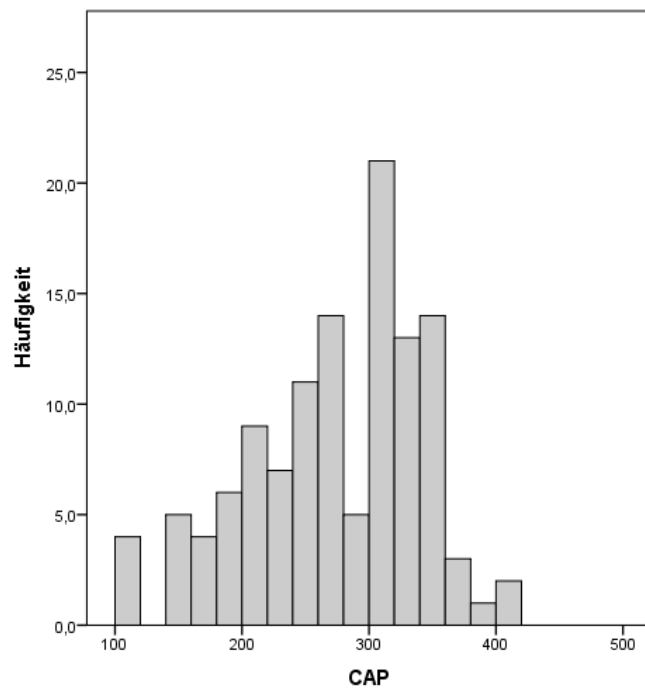


Abbildung 7 Histogramm zur Verteilung der CAP-Werte. Auf der Y-Achse sind die Häufigkeiten (in Prozentangabe) und auf der X-Achse die CAP-Werte (in dB/m) aufgetragen.

Die unten dargestellte Abbildung 8 zeigt die Verteilung der 129 LSM-Werte.

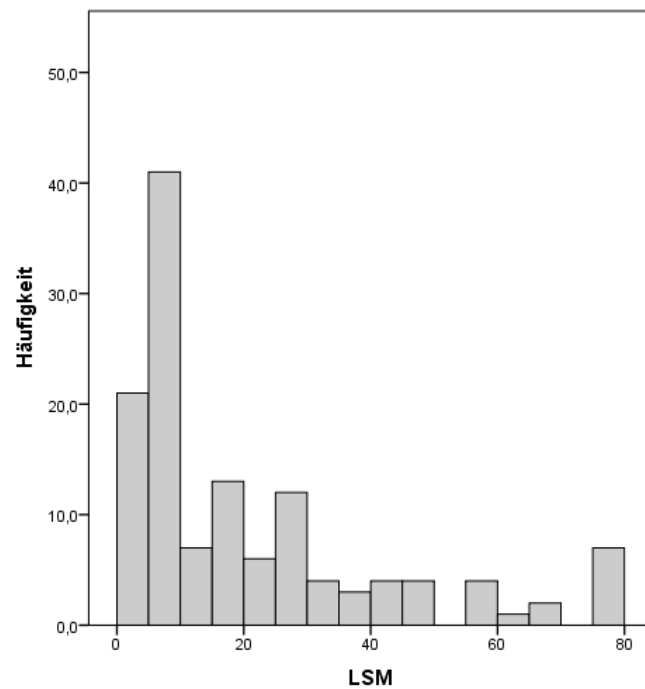


Abbildung 8 Histogramm zur Verteilung der LSM-Werte. Auf der Y-Achse sind die Häufigkeiten (in Prozentangabe) aufgetragen, auf der X-Achse sind alle LSM-Werte (in kPa) dargestellt.

Anhand der Abbildung 9 wurde die Verteilung der 87 Ergebnisse der sonographisch ermittelten Steatosegradeinschätzungen dargestellt. Dabei zeigt sich, dass der Wert 2 (einem Steatosegrad 1 entsprechend) am häufigsten auftritt.

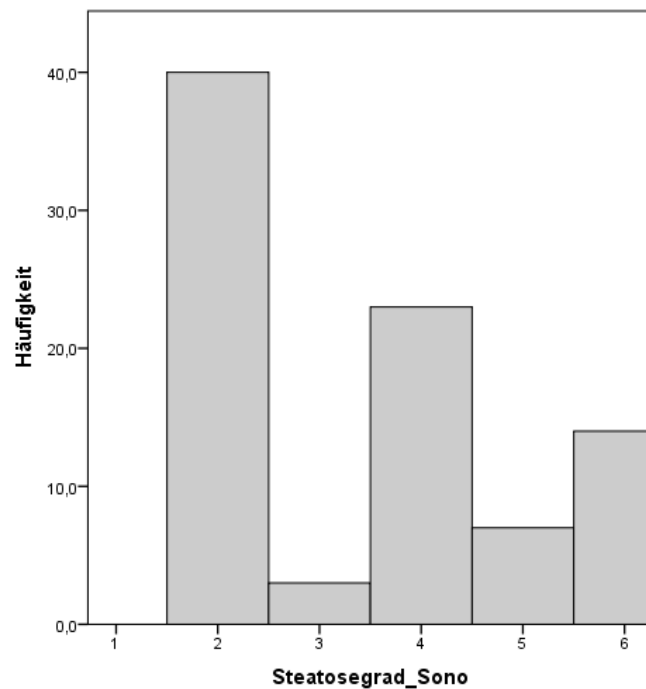


Abbildung 9 Balkendiagramm zum Steatosegrad in der Sonographie. Auf der Y-Achse sind die Häufigkeiten und auf der X-Achse die Gradeinteilung der Steatose aufgetragen.

3.1.4. Komplikationen

Die in Tabelle 13 ersichtlichen Angaben zum Vorliegen einer Zirrhose stammen aus den Arztbriefen der Patienten.

Tabelle 13 Häufigkeitstabelle Zirrhose laut Arztbriefangabe

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	keine Zirrhose	86	56,6	58,9	58,9
	Child Pugh A oder Zirrhose ohne Stadium	40	26,3	27,4	86,3
	Child Pugh B	14	9,2	9,6	95,9
	Child Pugh C	6	3,9	4,1	100,0
	Gesamt	146	96,1	100,0	

Es fehlt bei sechs Patienten eine Angabe. Bei den restlichen 146 haben 86 Patienten keine Zirrhose (59%), 40 haben ein niedriges Child-Pugh-Stadium (27%), und jeweils 14 (10%) und 6 (4%) Patienten haben ein Child-Pugh-Stadium B oder C. In der Abbildung 10 sind das Vorliegen einer Zirrhose und die Verteilung der verschiedenen Zirrhosestadien zu sehen.

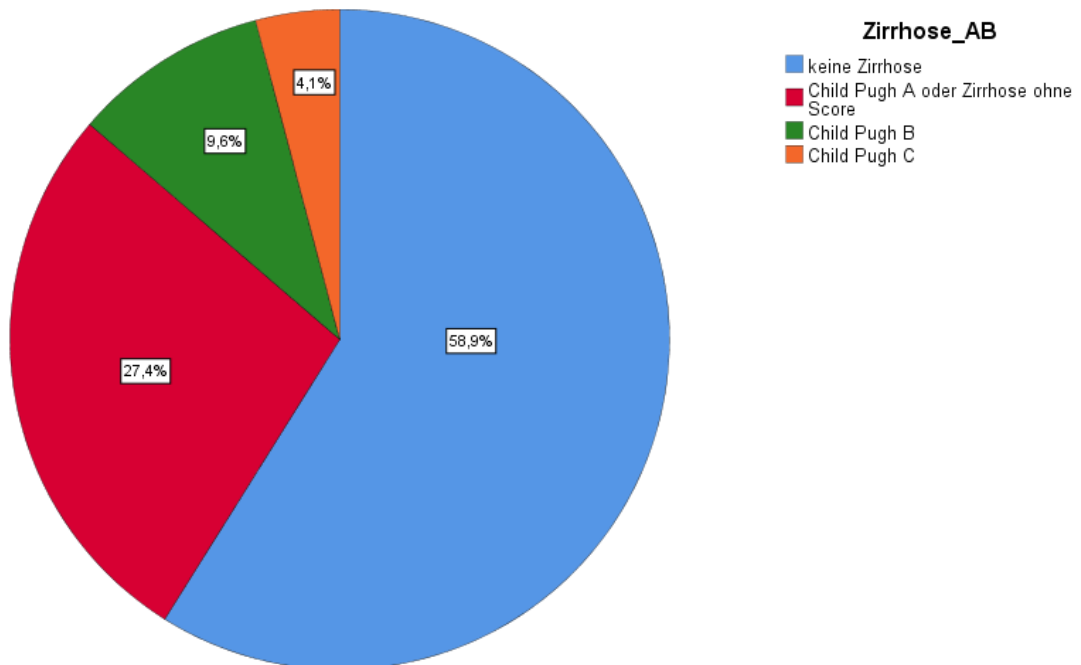


Abbildung 10 Kreisdiagramm zum Zirrhosestadium laut Arztbriefangabe.

Die zweite Möglichkeit, bei allen Patienten das Vorliegen einer Zirrhose zu diagnostizieren, ist die Höhe des bei der VCTE gemessenen LSM-Werts (Tabelle 14). Ab einen Wert von 13 kPa (Patienten und Methodik Abschnitt Transiente Elastographie, S. 21) kann von einem zirrhotischen Umbau der Leber ausgegangen werden.

Tabelle 14 Häufigkeitstabelle Zirrhose nach LSM-Wert

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	nein	69	45,4	53,5	53,5
	ja	60	39,5	46,5	100,0
	Gesamt	129	84,9	100,0	

Folgende Ergebnisse ergeben sich: 69 Patienten haben keine Zirrhose (also 53,5% des Kollektivs), und 60 haben eine Zirrhose entwickelt (46,5% [n= 129]). Die Anzahl der Anhand des LSM-Wertes festgestellten zirrhotische Umbauprozesse (46,5%) ist also höher als die Anzahl an dokumentierten Zirrhosebefunden in den Arztbriefen (41%).

Schließlich leiden 16 Patienten dieser Kohorte an einem HCC. Diese Patienten repräsentieren 11% der 144 gültigen Angaben zum Vorliegen dieser Erkrankung.

3.1.5. Genotypverteilung

Alle in dieser Arbeit eingeschlossenen *PNPLA3* p.I148M homozygoten Patienten wurden anhand ihrer *MBOAT7*-Genausprägung in verschiedene Risikogruppen eingestuft. In der anschließenden Häufigkeitstabelle (Tabelle 15) wird ein Überblick über die Verteilung der Genotypen gegeben.

Tabelle 15 Häufigkeitstabelle *MBOAT7*-Genotyp

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Wildtyp	47	30,9	30,9	30,9
	Heterozygot	75	49,3	49,3	80,3
	Homozygot	30	19,7	19,7	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

Es sind 47 Patienten mit Wildtypgenotyp vorhanden, dies entspricht 31% der Kohorte (n= 152). 75 weitere Patienten tragen eine heterozygote Ausprägung des mutierten Allels (49%). Schließlich sind 30 Patienten homozygot mutiert, entsprechend 20%.

Zur genauen Risikostratifizierung wurde ebenfalls differenziert, ob eine doppelte Anlage des *MBOAT7*-Risikoallels (Homozygotie) im Vergleich zum Wildtyp oder einer heterozygote Anlage mit einer Progression der vorhandenen NAFLD assoziiert ist. Dies erfolgte mit Hilfe der nachfolgenden Gruppierung der Patienten (Tabellen 16 und 17).

Tabelle 16 Häufigkeitstabelle *MBOAT7* mit Gegenüberstellung von Wildtyp und heterozygoten mit homozygoten Mutationsträgern

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Wildtyp oder Heterozygot	122	80,3	80,3	80,3
	Homozygot	30	19,7	19,7	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

122 Patienten tragen entweder eine Wildtypvariante oder eine heterozygote Ausprägung der Genvariante, entsprechend 80% der Kohorte. Der Prozentsatz an homozygoten Mutationsträgern ist identisch mit der vorherigen Tabelle 15 (20%).

Eine weitere Gruppierung der Patienten ermöglicht eine Differenzierung des Risikos zwischen Patienten ohne und Patienten mit mindestens einem mutierten Allel.

Tabelle 17 Häufigkeitstabelle *MBOAT7* mit Gegenüberstellung von Wildtyp mit heterozygoten und homozygoten Mutationsträgern

		Häufigkeit	Prozent	Gültige Prozente	Kumulierte Prozente
Gültig	Wildtyp	47	30,9	30,9	30,9
	Heterozygot oder Homozygot	105	69,1	69,1	100,0
	Gesamt	152	100,0	100,0	

105 Patienten tragen entweder eine heterozygote oder eine homozygote Ausprägung der Genvariante, entsprechend 69% des Patientenkollektivs. Der Prozentsatz an Patienten mit Wildtypallelen ist identisch mit Tabelle 15 (31%).

3.2. Vergleich zwischen den Genotypen

3.2.1. Laborparameter

In allen folgenden Boxplots (Abbildungen 11 bis 20) sind die Verteilungen aller gemessenen Laborwerte je nach Genotypausprägung dargestellt.

In Abbildung 11 ist die Verteilung der ALT-Serumaktivitäten nach Genotyp ersichtlich. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Aktivitäten sind gering. Die Berechnung der Signifikanz anhand des Kruskal-Wallis-Test ergibt keinen signifikanten Unterschied zwischen allen Kategorien ($p = 0,315$).

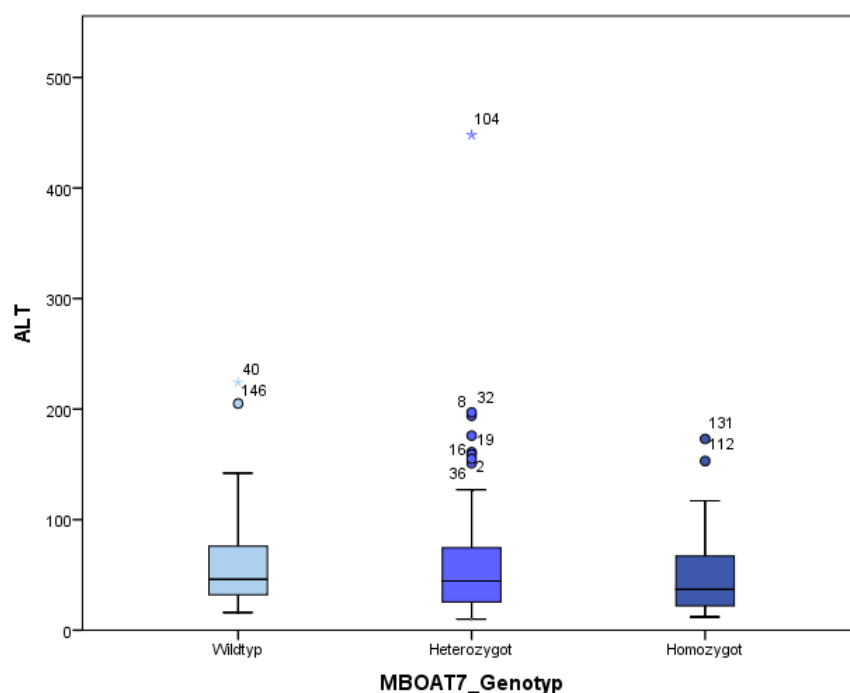


Abbildung 11 Boxplot zur Verteilung der ALT-Serumaktivitäten je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die ALT-Serumaktivitäten (in U/l) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Weitere Tests zwischen Genotypgruppen zeigen ebenfalls keinen signifikanten Unterschied: Die Gruppierung Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Allelfrequenz hat einen p-Wert von 0,246; die Gruppierung Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Allelausprägung hat einen p-Wert von 0,189.

In Abbildung 12 erfolgte die Aufteilung der AST-Serumaktivitäten nach Genotyp. Die statistischen Tests ergeben sowohl bei der Gegenüberstellung aller Genotypausprägungen ($p = 0,988$) als auch bei den anderen Gegenüberstellungen (Wildtyp gegen heterozygote oder homozygote Ausprägung [$p = 0,922$] und Wildtyp oder heterozygote gegen homozygote Allelausprägung [$p = 0,885$]) keine Signifikanz.

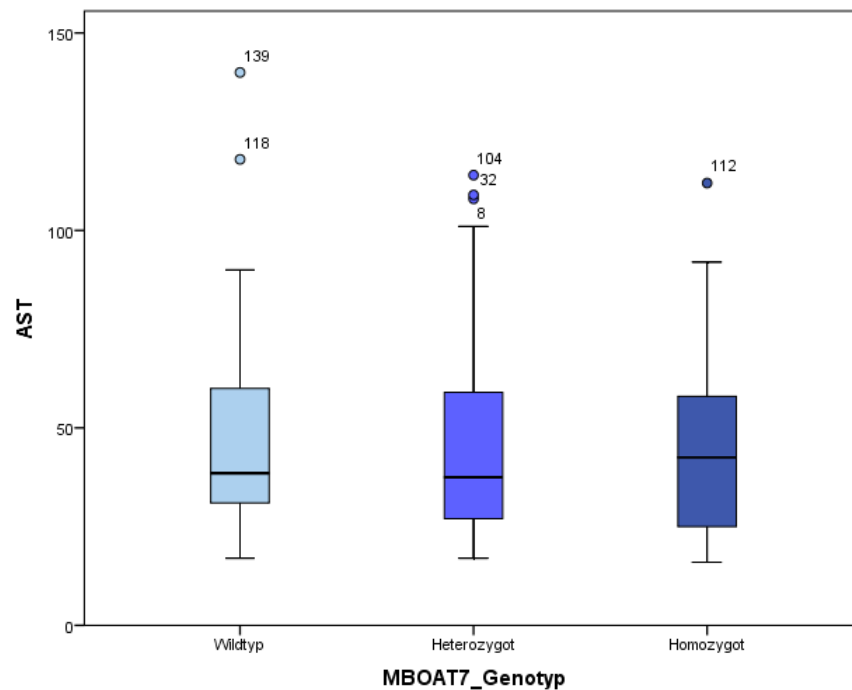


Abbildung 12 Boxplot zur Verteilung der AST-Serumaktivitäten je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die AST-Serumaktivitäten (in U/l) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Die in Abbildung 13 dargestellten AP-Serumaktivitätsunterschiede sind im Vergleich aller Genotypen ebenfalls nur geringfügig ausgeprägt. Diese marginalen Unterschiede ergeben in der Signifikanzberechnung keinen signifikanten Wert ($p = 0,643$).

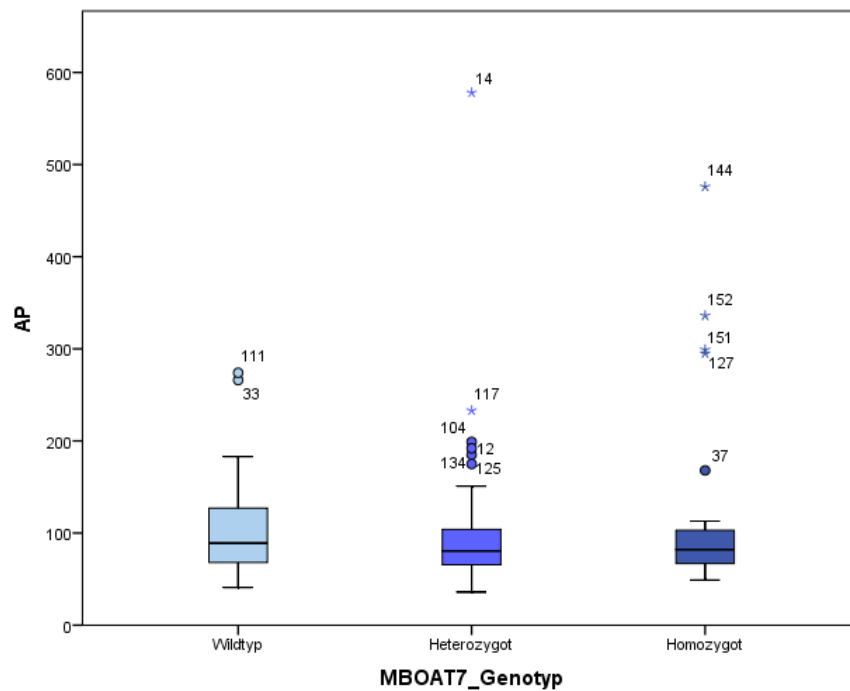


Abbildung 13 Boxplot zur Verteilung der AP-Serumaktivitäten je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die AP-Serumaktivitäten (in U/l) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

In weiteren Tests mit anderen Gruppierungen sind die Ergebnisse ebenfalls nicht signifikant: Bei der ersten Gruppe mit Gegenüberstellung von Wildtyp gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität ist der p-Wert 0,365; in der zweiten Gruppe mit Vergleich von Wildtyp oder heterozygoter gegen homozygote Ausprägung ist der p-Wert 0,949.

Abbildung 14 zeigt die GGT-Serumaktivitäten aufgeteilt nach Genotyp. Die Verteilungen sind im Kruskal-Wallis-Test nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,488$).

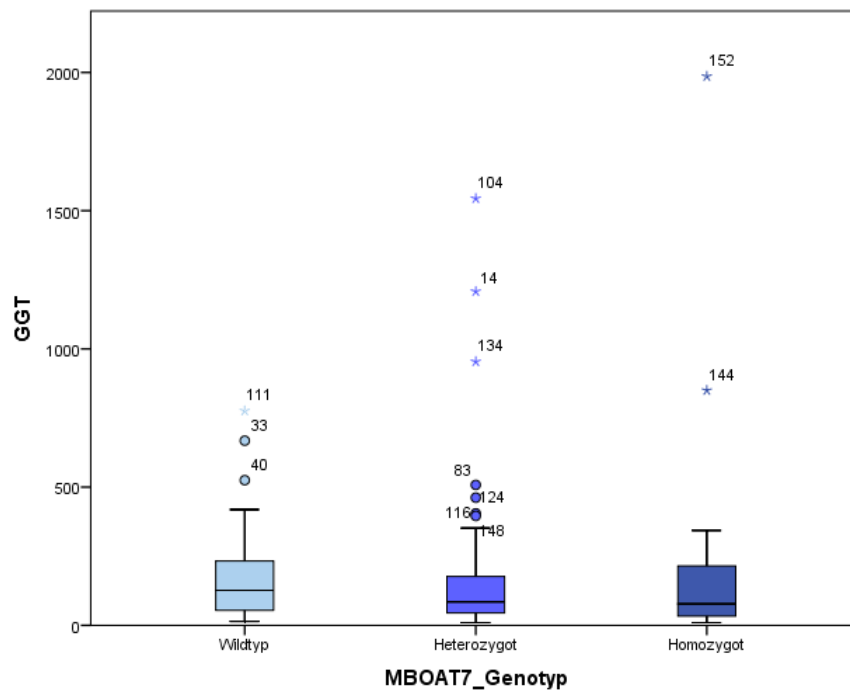


Abbildung 14 Boxplot zur Verteilung der GGT-Serumaktivitäten je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die GGT-Serumaktivitäten (in U/l) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Der Vergleich des Wildtyps mit heterozygoten und homozygoten Mutationsträgern mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests ergibt einen p-Wert von 0,241, die Gegenüberstellung von Wildtypvariante und heterozygoter Ausprägung gegen die homozygote Allelausprägung ergibt einen p-Wert von 0,537.

In der unten dargestellten Abbildung 15 sind die Thrombozytenzahlen je nach Genotyp aufgetragen. Die statistischen Tests ergeben keine Signifikanz für diesen sichtbar geringen Unterschied ($p = 0,530$).

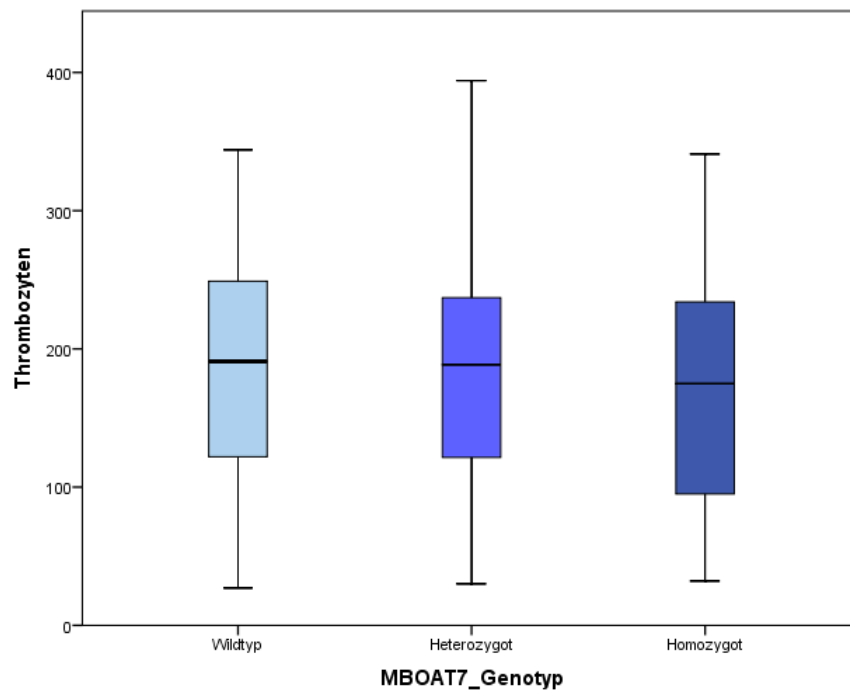


Abbildung 15 Boxplot zur Verteilung der Thrombozytenanzahl je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die Thrombozytenanzahl ($10^9/l$) im Blut und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Der Vergleich zwischen Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Ausprägung zeigt ebenso wie der Vergleich Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Allelausprägung keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,590$ bzw. $p = 0,265$).

Die Albumin-Serumkonzentrationen sind in der unteren Abbildung 16 je nach Genotyp eingeteilt dargestellt. Bei der Signifikanzberechnung ist kein signifikanter Unterschied zwischen alle drei Kategorien berechnet worden ($p = 0,662$).

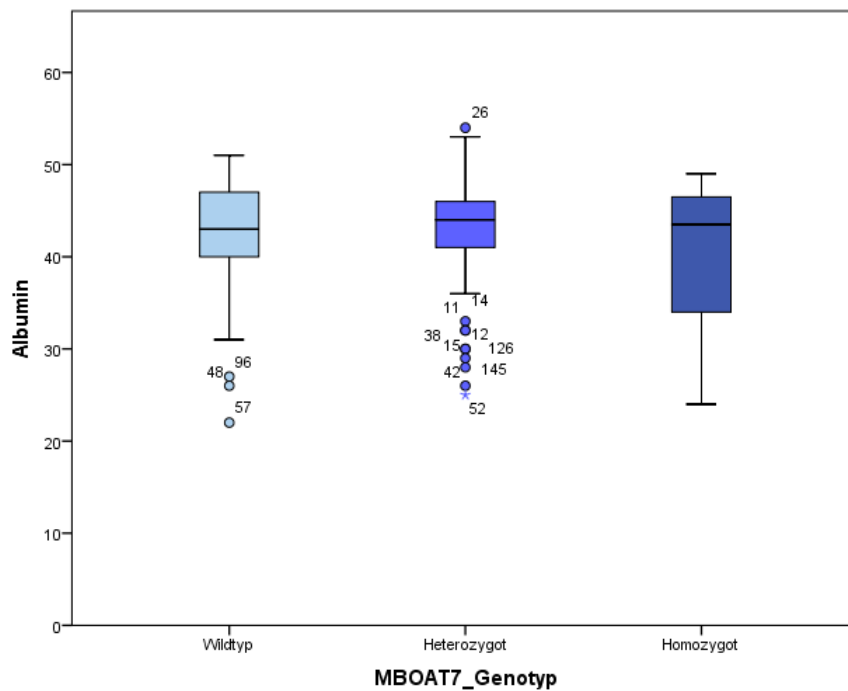


Abbildung 16 Boxplot zur Verteilung der Albumin-Serumkonzentrationen je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die Albumin-Serumkonzentrationen (in g/l) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Für die Gruppierungen Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität und Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung sind die Ergebnisse nicht signifikant unterschiedlich ($p = 0,970$ bzw. $p = 0,384$).

In der unten dargestellten Abbildung 17 sind die Cholesterin-Serumkonzentrationen je nach Genotyp dargestellt. Die Berechnung der Signifikanz der Unterschiede aller Genotypausprägungen ergibt hier keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,219$).

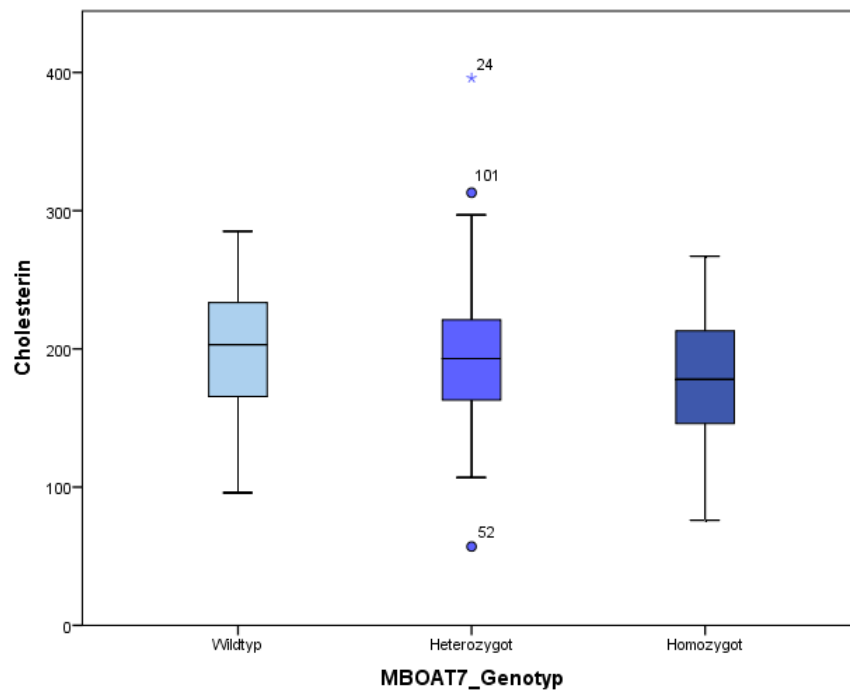


Abbildung 17 Boxplot zur Verteilung der Cholesterin-Serumkonzentrationen je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die Cholesterin-Serumkonzentrationen (in mg/dl) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Weitere Tests zwischen zusätzlichen Genotypgruppierungen zeigen ebenfalls keine Signifikanz: Die Gruppierung Wildtyp gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität hat einen p-Wert von 0,166; die Gruppierung Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung hat einen p-Wert von 0,144. Die in Abbildung 18 dargestellten TG-Serumkonzentrationen hatten im Vergleich aller Genotypen nur geringe Unterschiede zueinander. Diese Unterschiede ergeben in der Signifikanzberechnung keinen signifikanten Wert ($p = 0,746$).

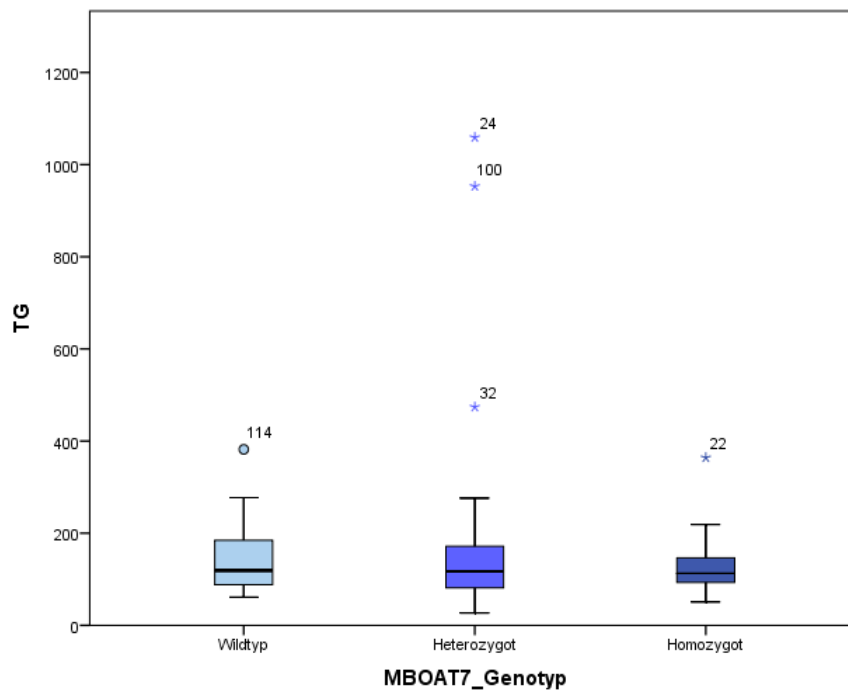


Abbildung 18 Boxplot zur Verteilung der TG-Serumkonzentrationen je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die TG-Serumkonzentrationen (in mg/dl) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Anhand des Mann-Whitney-U-Tests berechnete Tests mit anderen Genotyp-Risikogruppen sind die Ergebnisse nicht signifikant ($p = 0,489$ bzw. $p = 0,587$).

In Abbildung 19 sind die Ergebnisse des FIB-4-Scores nach Genotyp aufgetragen. Dieser nicht-invasive Fibrosetest zeigt im Vergleich aller Genotypausprägungen miteinander keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,170$).

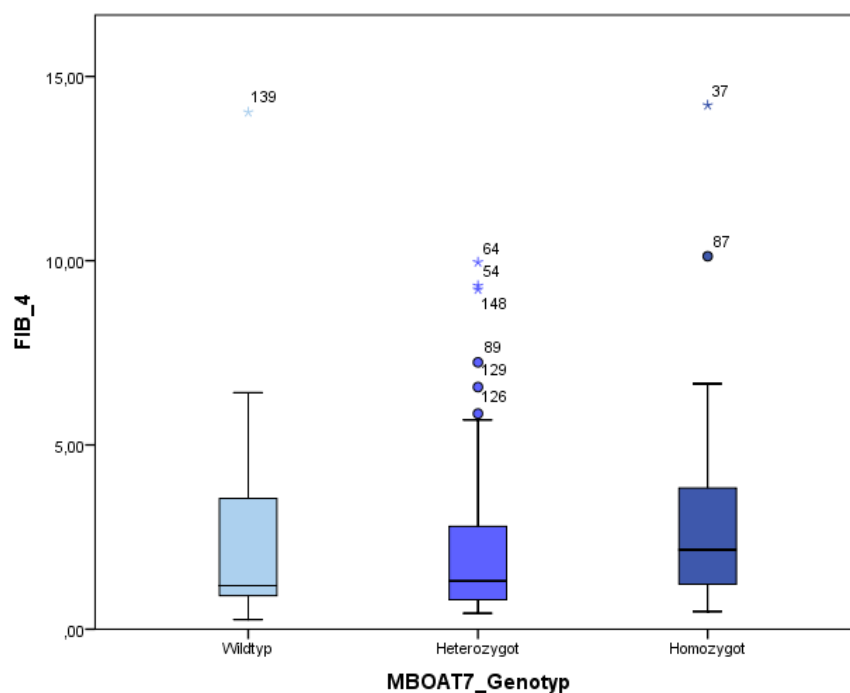


Abbildung 19 Boxplot zur Verteilung der FIB 4-Scores je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die FIB4-Ergebnisse und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Das Vorhandensein von mindestens einer Kopie des mutierten Gens (Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität [$p = 0,396$]) zeigt keine signifikanten Unterschiede. Für die doppelte Anlage der *MBOAT7*-Mutation (Vergleich zwischen Wildtypvariante oder heterozygoter gegen homozygote Allelausprägung) kommen nahezu signifikante Ergebnisse zum Vorschein ($p = 0,061$).

Die in der unteren Abbildung 20 dargestellten APRI-Score-Ergebnisse lassen keine signifikanten Unterschiede erkennen ($p = 0,706$). Die Berechnung der weiteren Risikokategorien ergibt ebenfalls keine Signifikanz: Wildtyp gegen heterozygote oder homozygote Ausprägung mit $p = 0,582$ und Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung mit $p = 0,434$.

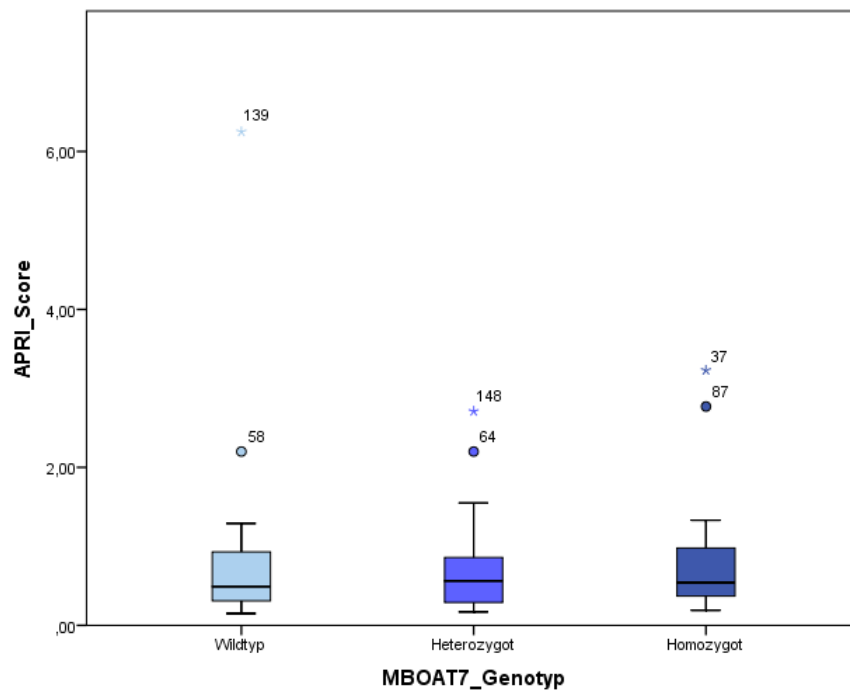


Abbildung 20 Boxplot zur Verteilung der APRI-Scores je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die APRI-Ergebnisse und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

3.2.2. Bildgebung

Die graphische Darstellung aller Ergebnisse der bildgebenden Diagnostik erfolgte ebenfalls mit Boxplots. Die Abbildungen 21 bis 23 stellen die Verteilungen dieser Ergebnisse nach Allelpositivität dar.

Im Rahmen der bildgebenden Diagnostik wurden die in Abbildung 21 gezeigten CAP-Werte gemessen und anschließend nach Genotypausprägung eingeteilt. Die in dieser Abbildung dargestellten Unterschiede sind nahezu signifikant ($p = 0,075$).

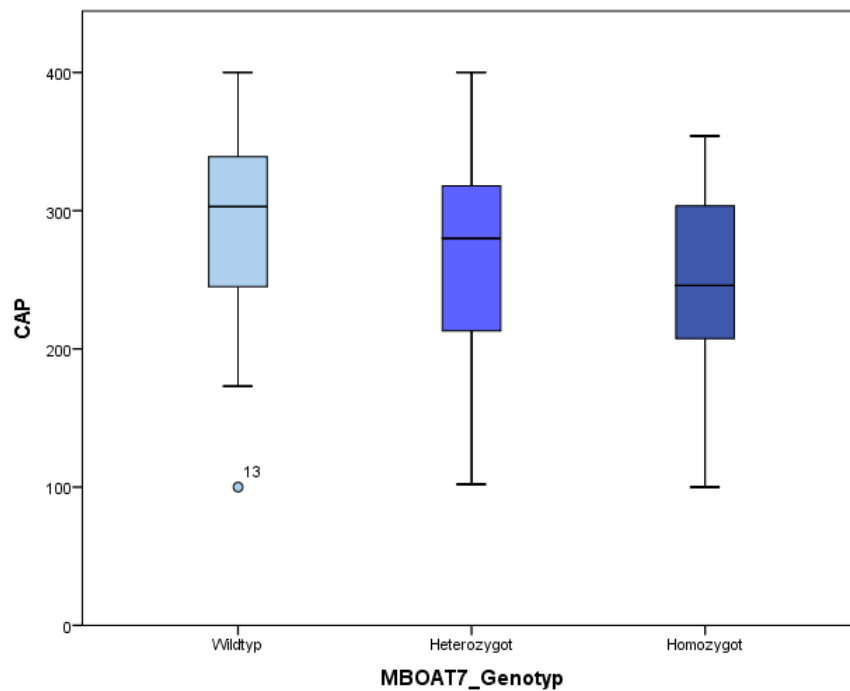


Abbildung 21 Boxplot zur Verteilung der CAP-Werte je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die CAP-Werte (in dB/m) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Die für die weiteren Gruppierungen durchgeführten Tests nähern sich auch einem signifikanten Ergebnis: Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Ausprägung $p = 0,074$ und Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung $p = 0,053$. Diese nahezu signifikanten Unterschiede zeigen in der später aufgeführten Korrelations- und in der Regressionsanalyse positive Ergebnisse.

Die durch VCTE gemessenen LSM-Werte sind in Abbildung 22 zu sehen. Zwischen den verschiedenen Allelausprägungen lässt sich kein signifikanter Unterschied berechnen ($p = 0,554$).

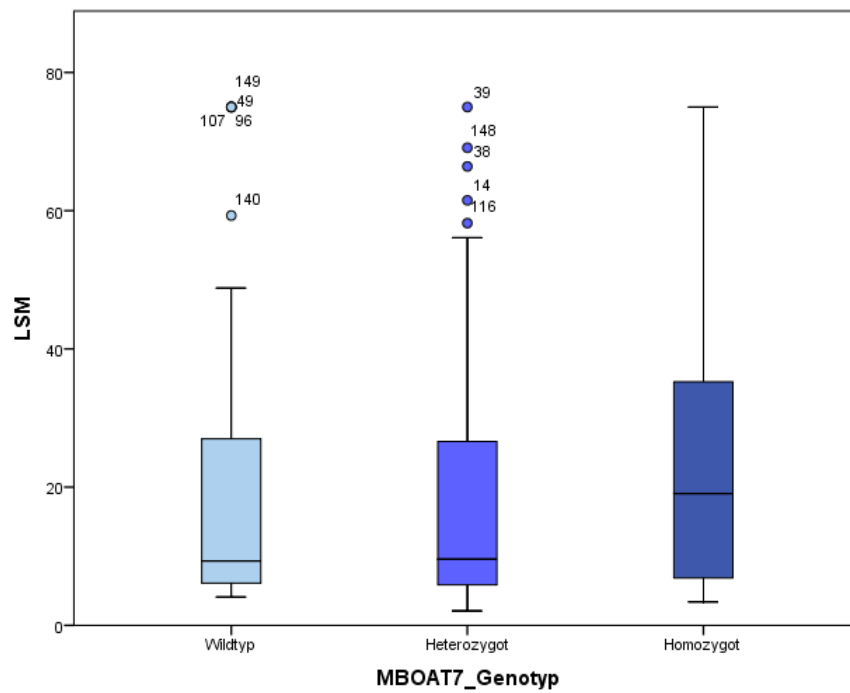


Abbildung 22 Boxplot zur Verteilung der LSM-Werte je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die LSM-Werte (in kPa) und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Die Gegenüberstellung von Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Ausprägung ergibt einen p-Wert von 0,998, die Gegenüberstellung von Wildtypvariante oder heterozygoter gegen homozygote Ausprägung ergibt einen p-Wert von 0,305.

Abbildung 23 zeigt die Ergebnisse der sonographischen Untersuchungen und deren Verteilung je nach Genotypausprägung. Zwischen allen Genotypausprägungen gibt es keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,336$).

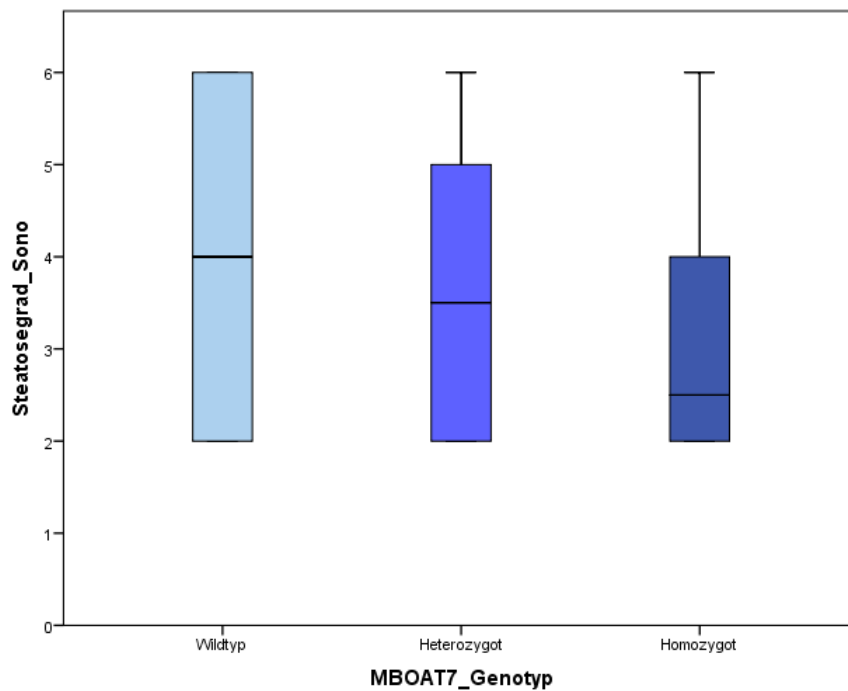


Abbildung 23 Boxplot zur Verteilung des Steatosegrad in der Sonographie je nach Genotyp. Auf der Y-Achse sind die Steatosegradeinteilungen und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt.

Zwischen Wildtyp gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität ist der p-Wert 0,207; zwischen Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung ist der p-Wert 0,264. Diese Gruppierungen zeigen also ebenfalls keine signifikanten Unterschiede.

3.2.3. Komplikationen

In den Abbildungen 24 und 25 sind die Zirrhosehäufigkeiten je nach *MBOAT7*-Genotyp dargestellt. Abbildung 23 stellt das Vorhandensein einer Zirrhose laut Arztbriefangabe je nach Genotyp dar. Die statistischen Tests ergeben keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,759$).

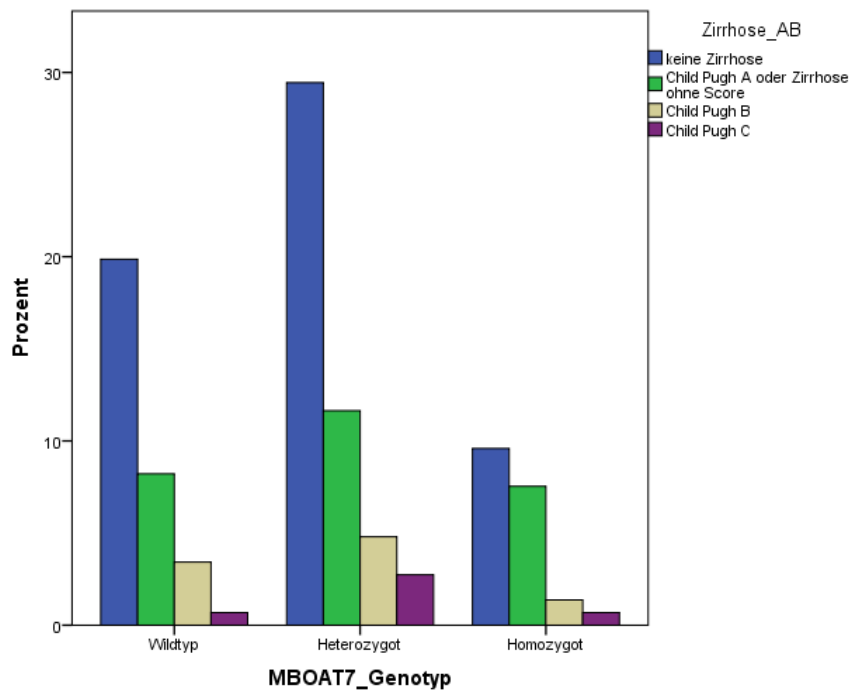


Abbildung 24 Balkendiagramm zur Ausprägung der Zirrhose je nach *MBOAT7*-Genotyp. Auf der Y-Achse sind die Prozentsätze und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt. Die verschiedenen Farben blau, grün, grau und lila entsprechen jeweils einer nicht vorhandenen Zirrhose sowie einem Stadium A, B und C nach Child-Pugh. Die Abkürzung Zirrhose_AB steht für Zirrhose laut Arztbrief.

Die Gegenüberstellung von Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität zeigt ebenso wie die Gegenüberstellung Wildtypvariante oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,820$ bzw. $p = 0,476$).

Das Vorhandensein einer Zirrhose entsprechend LSM der VCTE-Messung ist in der unteren Abbildung 25 je nach Genotyp eingeteilt dargestellt. Bei der Signifikanzberechnung lässt sich kein signifikanter Unterschied zwischen diesen drei Kategorien berechnen ($p = 0,424$).

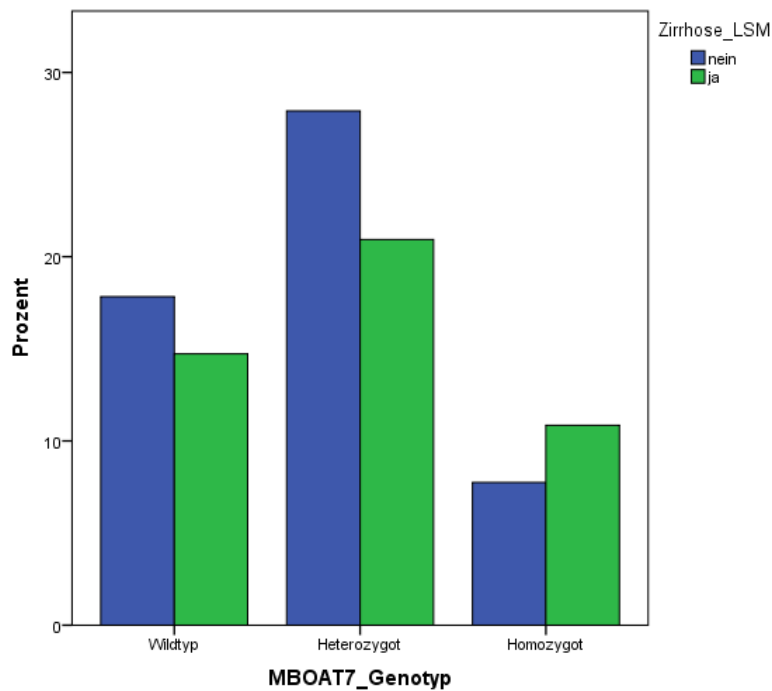


Abbildung 25 Balkendiagramm zur Ausprägung der Zirrhose anhand des LSM-Werts je nach *MBOAT7*-Genotyp. Auf der Y-Achse sind die Prozentsätze und auf der X-Achse die verschiedenen Allelausprägungen dargestellt. Die Farben blau und grün entsprechen jeweils einer nicht vorhandene Zirrhose sowie einer mittels LSM diagnostizierten Zirrhose.

Für die Gruppierungen Wildtypvariante gegen heterozygote oder homozygote Allelpositivität und Wildtyp oder heterozygote gegen homozygote Ausprägung sind die Ergebnisse nicht signifikant ($p = 0,840$ bzw. $p = 0,198$).

Das Vorhandensein eines HCC wurde im Vergleich aller Genotypen ebenfalls getestet. Die vorhandenen Unterschiede ergeben keinen signifikanten Wert ($p = 0,760$). Weitere mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests bei anderen Genotyp-Risikogruppen durchgeführte Vergleiche zeigen ebenfalls keine Signifikanz. Bei der ersten Gruppe (Wildtyp versus heterozygote oder homozygote Ausprägung) ist der p-Wert 0,529; in der zweiten Gruppe mit Gegenüberstellung von Wildtypvariante oder heterozygoter gegen homozygote Ausprägung ist der p-Wert 0,883.

3.3. Weitere Faktoren

3.3.1. Korrelationsanalyse

In Tabelle 18 sind alle Ergebnisse der Korrelationsanalyse dargestellt. Alle signifikanten Ergebnisse ($p < 0,05$) sind farbig markiert: die roten Markierungen entsprechen einer negativen, die grünen Markierungen entsprechen einer positiven Korrelation zwischen den analysierten Merkmalen.

	Geschlecht	Alter	MBOAT7_S enoYp	MBOAT7_W T-Hettem	MBOAT7_W Thet-Hom	BMI	Diabetes_Mellitus_2	Arterielle Hypertonie	Metabolisches Syndr.	Ätiologie	ALT	AST	AP	GGT	Thrombozyten	Albumin	Cholesterin	TG	CAP	LSM	Steatogri d-Sono	FIB_4	APRI_Score	Zirrhose_B	Zirrhose_A	Zirrhose_LS	HCC				
Geschlecht																															
Alter							0.21	0.18			-0.21			0.31	0.42	-0.54	-0.55				0.27		0.73	0.33	0.43	0.50	0.23				
MBOAT7_G enoYp																															
MBOAT7_W T-Hettem																															
MBOAT7_W Thet-Hom							0.17																								
BMI																															
Diabetes_Mellitus_2																															
Arterielle Hypertonie																															
Metabolisches Syndr.																															
Ätiologie																															
ALT												0.25		0.37	0.22	0.34	0.32	0.45	0.28	0.28	0.23			0.38	-0.30						
AST														0.33	0.57			0.28		0.35											
AP														0.57	-0.36	-0.49	-0.24			0.46			0.44	0.44	0.45	0.44	0.31				
GGT														0.38	-0.35					0.53			0.56	0.58	0.37	0.51	0.21				
Thrombozyten																				0.37	-0.68	0.28			-0.67	-0.61	-0.46				
Albumin																				0.41	-0.61	0.38	-0.33	-0.29	-0.68	-0.51	-0.43				
Cholesterin																				0.32	-0.25				-0.37	-0.33					
TG																				0.41		0.31			-0.21						
CAP																					-0.25	0.47			-0.30	-0.29	-0.21				
LSM																															
Steatogri d-Sono																															
FIB_4																															
APRI_Score																															
Zirrhose_A																															
Zirrhose_B																															
Zirrhose_LS																															
HCC																															

Tabelle 18 Zusammenfassung aller berechneten Korrelationskoeffizienten. Graue Markierungen entsprechen alle doppelt eingetragenen oder nicht zutreffender Kombinationen, weiße Markierungen entsprechen einer nicht signifikanten Korrelation, rote Markierungen entsprechen einer signifikanten negativen Korrelation, und grüne Markierungen entsprechen einer signifikanten positiven Korrelation.

Ein zusätzliches mutiertes *MBOAT7*-Allel ist mit vermehrtem Auftreten von Diabetes mellitus Typ 2 ($r_s = 0,17$) vergesellschaftet. Das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 geht mit höheren LSM-Werten ($r_s = 0,29$) und einem vermehrten Auftreten von HCC einher ($r_s = 0,32$). Patienten mit höheren Scores für das metabolische Syndrom bieten höhere CAP-Werte ($r_s = 0,33$). Eine alkoholbedingte oder eine nicht-alkoholische Genese der Fettleber ist mit höheren CAP-Werten verbunden ($r_s = 0,23$). Das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie ($r_s = 0,22$), ein höheres Ergebnis im Score für das metabolische Syndrom ($r_s = 0,36$) und eine alkoholbedingte oder eine nicht-alkoholische Fettlebergenese ($r_s = 0,27$) gehen mit einer Erhöhung des Steatosegrads in der Sonographie einher. Erhöhte Fibrosescores (FIB4- und APRI-Score) sowie die Diagnose einer Zirrhose (im Arztbrief) gehen mit einer erhöhten Rate an HCC einher.

Das Vorliegen eines zusätzlich mutierten Allels des *MBOAT7*-Gens korreliert mit niedrigeren CAP-Werten ($r_s = -0,21$). Patienten mit höheren FIB4-Scores oder höheren LSM-Werte haben niedrigere CAP-Werte (jeweils $r_s = -0,33$ und $r_s = -0,25$). Das Vorliegen einer Zirrhose, das Alter und das Vorliegen eines HCC sind ebenfalls mit niedrigen CAP-Werten assoziiert.

3.3.2. Regressionsanalyse

Im Rahmen der weiteren statistischen Auswertung erfolgte eine univariate lineare Regressionsanalyse. Bei der Analyse der ALT- und AST-Serumaktivitäten sowie der APRI-Score-Ergebnisse zeigen sich keine signifikanten Ergebnisse. Weitere Analysen ergaben die folgenden signifikanten Ergebnisse:

- Der FIB4-Score steigt mit zunehmenden Lebensalter an. Patienten, die um ein Jahr älter sind, haben ein um 0,086 signifikant ($p < 0,001$) erhöhtes Ergebnis im FIB4-Score.
- Die Cholesterin- und TG-Serumspiegel werden vom metabolischen Syndrom beeinflusst. Pro zusätzlichem Punkt im Score steigen die Cholesterin- und TG-Serumspiegel jeweils um 21,70 mg/dl ($p < 0,001$) bzw. 39,96 mg/dl ($p = 0,002$).

Die anderen Daten wurden in der univariaten Analyse von mehreren Variablen beeinflusst, dementsprechend erfolgte eine multivariate Regressionsanalyse, bei der folgende Ergebnisse signifikant sind:

- Sowohl BMI als auch die Ätiologie und der *MBOAT7*-Genotyp beeinflussen die CAP-Werte (Tabelle 19). Eine höhere BMI-Kategorie geht mit um 42 dB/m höheren Werten einher ($p < 0,001$). Eine äthyltoxische oder eine nicht-alkoholische Genese der Fettlebererkrankung führt zu einer Erhöhung der Werte um 40 dB/m ($p = 0,012$). Jeder zusätzliche mutierte *MBOAT7*-Allel senkt hingegen die Werte um 23 dB/m ($p = 0,019$).

Tabelle 19 Multivariate Regression CAP

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
BMI	41,793	8,031	,489	5,204	,000
Ätiologie	39,556	15,460	,239	2,559	,012
MBOAT7_Genotyp	-23,481	9,781	-,222	-2,401	,019

a. Abhängige Variable: CAP

- Die LSM-Werte werden vom Alter, vom Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 und von der BMI-Kategorie beeinflusst. Wie in Tabelle 20 ersichtlich, trägt das Alter pro zusätzlichem Lebensjahr 0,6 kPa bei ($p < 0,001$), das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 geht mit einer Erhöhung der Werte um 12,3 kPa einher ($p = 0,022$), und Patienten mit einer höheren Gewichtsklasse haben um 5,1 kPa niedrigere Werte ($p = 0,042$).

Tabelle 20 Multivariate Regression LSM

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Alter	,568	,141	,389	4,035	,000
Diabetes_mellitus_2	12,250	5,232	,225	2,342	,022
BMI	-5,107	2,465	-,199	-2,072	,042

a. Abhängige Variable: LSM

- Das metabolische Syndrom geht pro zusätzlichem Punkt im entsprechenden Score auch mit einer Erhöhung des Steatosegrads in der Sonographie von 0,426 einher ($p = 0,001$).
- Alter (0,019 pro Lebensjahr, $p = 0,001$) und metabolisches Syndrom (-0,225 pro zusätzlichem Punkt im Score, $p = 0,001$) spielen eine Rolle für die Entstehung einer im Arztbrief dokumentierten Zirrhose (Tabelle 21).

Tabelle 21 Multivariate Regression Zirrhose_AB

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Alter	,019	,005	,313	3,423	,001
Metabolisches_Syndrom	-,225	,068	-,302	-3,302	,001

a. Abhängige Variable: Zirrhose_AB

- Das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 (0,243 bei Erkrankung des Patienten, $p < 0,001$) und das weibliche Geschlecht (-0,100 für Frauen, $p = 0,048$) sind positiv bzw. negativ mit der Entstehung eines HCC assoziiert (Tabelle 22).

Tabelle 22 Multivariate Regression HCC

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Diabetes_mellitus_2	,243	,062	,310	3,934	,000
Geschlecht	-,100	,050	-,157	-1,997	,048

a. Abhängige Variable: HCC

- Das Alter (-0,177 pro Lebensjahr, $p < 0,001$) und das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 (-2,815 bei Vorliegen dieser Erkrankung mit $p = 0,035$) haben beide einen negativen Einfluss auf die Albuminkonzentration (Tabelle 23).

Tabelle 23 Multivariate Regression Albumin

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Alter	-,177	,035	-,407	-5,062	,000
Diabetes_mellitus_2	-2,815	1,323	-,171	-2,128	,035

a. Abhängige Variable: Albumin

- Ein übergewichtiger Patient hat im Vergleich zu einem normalgewichtigen Patienten um 68,57 U/l niedrigere GGT-Serumaktivitäten ($p = 0,034$). Das Alter und das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 beeinflussen die AP-Serumaktivitäten (Tabelle 24). Pro Jahr Altersunterschied sind die Werte um 1,01 U/l höher ($p = 0,011$), und das Vorliegen eines Diabetes mellitus Typ 2 geht mit einer Erhöhung der AP-Werte um 30,43 U/l einher ($p = 0,039$).

Tabelle 24 Multivariate Regression AP

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Alter	1,012	,392	,211	2,579	,011
Diabetes_mellitus_2	30,431	14,631	,170	2,080	,039

a. Abhängige Variable: AP

- Wie in Tabelle 25 ersichtlich beeinflussen das Alter und die Ätiologie die Thrombozytenzahl: Patienten, die um ein Jahr älter sind, haben um $2,67 \times 10^9/l$ geringere Werte ($p < 0,001$), während Patienten mit äthyltoxischer oder nicht-alkoholischer Fettlebergenese um $27,05 \times 10^9/l$ höhere Werte als Patienten mit anderer Ätiologie der Lebererkrankung aufweisen ($p = 0,041$). Frauen haben signifikant ($p = 0,011$) höhere Werte als Männer.

Tabelle 25 Multivariate Regression Thrombozyten

	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Signifikanz
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
Alter	-2,670	,390	-,488	-6,853	,000
Geschlecht	30,202	11,784	,181	2,563	,011
Ätiologie	27,051	13,110	,144	2,063	,041

a. Abhängige Variable: Thrombozyten

4. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die genetischen Prädispositionen der Fettlebererkrankungen und ihre Wechselwirkungen darzustellen. Das Risiko, an einer NAFLD zu erkranken, lässt sich anhand des Genotyps stratifizieren. Dabei stellt die p.I148M *PNPLA3*-Homozygotie eine Hochrisikogruppe dar (18), dessen Phänotyp näher charakterisiert wurde.

4.1. Phänotypen der Kohorte

Alle in der Kohorte eingeschlossenen Patienten waren homozygote Träger der p.I148M Mutation des *PNPLA3*-Gens.

Männer (57% der Kohorte) zeigten höhere LSM-Werte, FIB4-Scores und ein höheres Risiko, an einem HCC zu erkranken. Diese drei Parameter beschreiben also eine ausgeprägtere Tendenz zur Progression der Lebererkrankung. Das Durchschnittsalter innerhalb des Patientenkollektivs liegt bei 53 Jahren. Das Alter steht in Zusammenhang mit einem vermehrtem Auftreten von Risikofaktoren wie Diabetes mellitus Typ 2 und arterielle Hypertonie sowie mit deutlicheren Fibrosezeichen. Zudem ist ein höheres Alter mit höheren Leberwerten (GGT, AP), schlechterer Syntheseleistung der Leber (niedrigere Albuminkonzentrationen im Serum), weniger Steatose und niedrigen Thrombozytenzahlen assoziiert. 75% des untersuchten Patientenkollektivs waren übergewichtig oder adipös. Dies geht mit einer stärkeren Steatose der Leber und im Gegensatz dazu mit weniger Fibrose einher.

Die Prävalenz des Diabetes mellitus Typ 2 liegt in dieser Kohorte bei 20%. Diese Erkrankung zeigte signifikante Assoziationen mit einer vermehrten Fibrose der Leber (höhere LSM-Werte) und höherer HCC-Inzidenz sowie mit einer gestörten Synthesefunktion (niedrigere Albumin-Serumspiegel) und Gerinnung (niedrigere Thrombozytenzahlen). 28% der Kohorte leidet an einer arteriellen Hypertonie. Diese war mit einer vermehrten Steatose in der Sonographie vergesellschaftet. 68% der Patienten erfüllen mindestens ein Kriterium des metabolischen Syndroms und 37% erfüllen mindestens zwei von fünf der Kriterien. Ein höheres Ergebnis in diesem Score geht mit höheren Cholesterin- und TG-Spiegeln und mehr hepatischer Steatose (höhere CAP-Werte und Steatosegrade in der Sonographie) einher. Die Ätiologie der Lebererkrankung ist bei 73% der Patienten auf eine äthyltoxische (ALD) oder eine nicht-alkoholische Genese (NAFLD) zurückzuführen. Bei beiden Ätiologien zeigten sich sowohl höhere CAP-Werte als auch höhere Steatosegrade in der Sonographie als Zeichen der vermehrten Steatose als bei Patienten mit anderen Grunderkrankungen.

Bei der in dieser Arbeit gezeigten genetischen Hochrisikogruppe für Fettlebererkrankungen scheinen also die allgemeinen Risikofaktoren für die NAFLD trotz der genetischen Prädisposition noch Mitwirkung auf die Phänotypen zu haben.

4.2. Art der Phänotypisierung

Die Phänotypisierung erfolgte anhand mehrerer nicht-invasiver Methoden. Im Labor wurden Parameter zum Leberstoffwechsel analysiert und anhand von zwei Fibrosescores konnte dadurch eine Risikostratifizierung erfolgen. Desweiteren ermöglicht eine Bildgebung mit VCTE und Sonographie eine Erfassung von morphologischen Veränderungen des Leberparenchyms. Die Bestimmung der Serumaktivitäten der in der Leber vorkommenden Aminotransferasen sind Surogatmarker der Leberschädigung. Bei beiden Geschlechtern liegen Maximum und Median der ALT-Serumaktivitäten über dem oberen Normwert und deuten somit auf eine Leberschädigung innerhalb der Kohorte hin. Diese hohen Serumaktivitäten gehen mit höheren CAP-Werten, niedrigeren Thrombozytenzahlen, verminderten Serumalbuminkonzentration sowie mit erhöhten Cholesterin- und TG-Werten einher. Der Medianwert der AST-Aktivitäten bei Männern liegt im oberen Normalbereich, bei Frauen oberhalb des Grenzwerts über dem oberen Grenzwert hinaus. Eine Erhöhung der AST-Serumaktivität steht im Zusammenhang mit der Erhöhung der AP- und GGT-Serumaktivitäten. Es ist damit ebenfalls höhere LSM-Werte vergesellschaftet, als Marker der Leberfibrose. Der Medianwert der AP-Serumaktivitäten liegt bei Frauen und Männern (trotz sehr hoher Maximalwerte) im Normbereich. Höhere AP-Serumaktivitäten sind mit einer vermehrten Fibrose (höhere LSM-Werte, höhere FIB4- und APRI-Scores, mehr Zirrhose und HCC) und mit weniger Steatose (niedrigere CAP-Werte) assoziiert. Bei beiden Geschlechtern sind der Maximalwert sowie der Medianwert der GGT-Serumaktivitäten deutlich erhöht und gehen ebenfalls mit Fibrosierung in der Leber (hohe LSM-Werte, hohe FIB4- und APRI-Scores, häufiger Zirrhose und HCC) einher. Diese Werte stehen außerdem in einem signifikanten Zusammenhang mit niedrigeren CAP-Werten, Albuminspiegeln und Thrombozytenzahlen.

Die gemessenen Thrombozytenzahlen haben ein Minimum von $27 \times 10^9/l$ und einen Medianwert von $185 \times 10^9/l$ (Normbereich $140-400 \times 10^9/l$). Niedrigere Thrombozyten korrelieren mit höheren Cholesterinspiegeln, CAP-Werten und Steatosegraden in der Sonographie sowie mit niedrigeren LSM-Werte und abnehmender Häufigkeit von Zirrhose und HCC. Die zur Einschätzung der Synthesefunktion der Leber gemessenen Albuminkonzentrationen haben einen Medianwert von 44 g/l und einen Minimalwert von 22 g/l . Höhere Albuminkonzentrationen stehen in dieser Kohorte im Zusammenhang mit höheren Cholesterinwerten, vermehrter Steatose und geringerer Fibrose der Leber (niedrigere LSM-Werte sowie FIB4- und APRI-Scores und eine niedrigere Inzidenz von Zirrhose und HCC).

Die Medianwerte der Cholesterin- und Triglyceridspiegel im Serum liegen im oberen Normbereich. Anstiege dieser beiden Parameter korrelieren mit einer vermehrten Leberverfettung (höhere CAP-Werte) und weniger Leberfibrose.

Mit allen oben dargestellten Labordaten wurden zwei Fibrose-Scores berechnet. Insgesamt 50 Patienten hatten in dem FIB4-Score eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine fortgeschrittene Fibrose. Bei diesen Patienten korrelieren die erhöhten FIB4-Werte mit mehreren Fibrosezeichen (hohe LSM-Werte, hohe Ergebnisse im APRI-Score und hohe Inzidenz für Zirrhose und HCC). Zusätzlich sind diese Werte mit dem männlichen Geschlecht, niedrigen CAP-Werten und verminderten Albuminkonzentrationen assoziiert. Höhere Werte in dem APRI-Score sind ebenfalls mit höheren LSM-Werten und einer erhöhten Zirrhosehäufigkeit sowie mit einer schlechteren Synthesefunktion der Leber (niedrigere Albuminkonzentrationen) vergesellschaftet.

Zur bildgebenden Diagnostik wurde eine VCTE-Messung durchgeführt. Die dabei gemessenen CAP-Werte haben einen Medianwert von 279 dB/m, der an der Grenze zum Steatosegrad 3 liegt (280 dB/m). Diese CAP-Werte korrelieren negativ zum Genotyp, das heißt, dass pro zusätzlichem mutierten *MBOAT7*-Allel die CAP-Werte abfallen. Weiterhin negativ korrelierende Faktoren sind das Alter und die Leberfibrose (LSM, FIB4, Zirrhose und HCC). Höhere CAP-Werte sind mit höheren BMI-Kategorien, höheren Scores des metabolischen Syndroms und vermehrter Steatose in der Sonographie, höheren Albumin-, Cholesterin- und TG-Spiegeln sowie mit einer Fettlebererkrankung nicht-alkoholischer oder äthyltoxischer Genese vergesellschaftet. Dagegen liegt der LSM-Medianwert bei 12 kPa und damit knapp unterhalb des LSM-Werts von 13 kPa, der allgemein einen zirrhotischen Leberumbau anzeigt (9). Höhere LSM-Werte gehen mit einer vermehrten Leberschädigung (höhere AST-, AP- und GGT-Serumaktivitäten) und Fibrose (höhere FIB4- und APRI-Scores, häufiger Zirrhose und HCC) einher. Diese Werte korrelieren außerdem mit einem höheren Lebensalter, dem männlichen Geschlecht, einer reduzierten Steatose (niedrigere CAP-Werte) und einer niedrigeren Thrombozytenzahl.

Die nicht-invasiven diagnostischen Verfahren korrelieren miteinander und zeigen die genaue nicht-invasive Erfassung des Phänotyps auch ohne Durchführung einer Leberbiopsie. Die Höhe der CAP-Werte korreliert mit den in der Sonographie erfassten Steatosegrade, und höhere LSM-Werte gehen mit höheren Ergebnissen in beiden Fibrose-Scores einher. Diese nicht-invasive Methoden werden vermehrt genutzt, da eine Kombination aus mehreren Untersuchungen, wie zum Beispiel von Fibrose-Scores und anschließender LSM-Messung, eine fortgeschrittene Fibrose genau diagnostizieren kann (6). Die bei einer VCTE ebenfalls gemessenen CAP-Werte können zudem eine Leberverfettung zum Vorschein bringen (19).

4.3. Komplikationen

Laut Angabe in den Arztbriefen der Patienten haben 41% des Kollektivs eine Zirrhose. Das Vorliegen einer Zirrhose und von fortgeschrittenen Zirrhosestadien geht mit höheren AP- und GGT-Serumaktivitäten und einer vermehrten Fibrose (höhere LSM-Werte, höhere FIB4- und APRI-Werte und häufiger HCC) einher. Dazu kommen tendenziell höhere CAP-Werte, höhere Scores im metabolischen Syndrom, höhere TG- und Cholesterinspiegel und niedrigere Thrombozytenzahlen und Albuminkonzentrationen. Die im VCTE gemessenen LSM-Werte ab 13 kPa korrelieren mit zirrhatischen Veränderungen der Leber. Dieses zeigt sich anhand der starken Korrelation dieser Ergebnisse mit den in den Arztbriefen dokumentierten Zirrhosen. LSM-Werte ab 13 kPa sind ebenfalls mit einer vermehrten Leberparenchymschädigung (höhere AST-, AP- und GGT-Serumaktivitäten) und vermehrten Fibrosezeichen (hohe FIB4- und APRI-Scores sowie HCC-Inzidenz) assoziiert.

Bei insgesamt 16 Patienten (13 Männer und 3 Frauen) innerhalb der Kohorte wurde ein HCC diagnostiziert. Die Häufigkeit dieser Erkrankung korreliert mit höheren AP- und GGT-Serumaktivitäten, niedrigeren Thrombozytenzahlen und Albuminkonzentrationen und mit ausgeprägten nicht-invasiv-gemessenen Fibrosezeichen (höhere LSM-Werte und FIB4-Scores) sowie weniger Steatose (niedrigere CAP-Werte).

4.4. MBOAT7-Risikogruppe

Wie bereits im Kapitel Ergebnisse dargestellt, wurden die Patienten nach *MBOAT7*-Genotypausprägung eingeteilt. In dieser Studie wurden aus diesen Allelausprägungen verschiedene Gruppen gebildet und untereinander verglichen und analysiert.

Die statistischen Tests zeigen mehrere nahezu signifikante Ergebnisse: Der Vergleich zwischen Wildtyp und heterozygoter Ausprägung einerseits und homozygoten Mutationsträgern andererseits ergibt höhere Ergebnisse im FIB4-Score bei homozygoter Mutation des *MBOAT7*-Gens ($p = 0,06$). Des Weiteren zeigen sich beinahe signifikante Unterschiede der CAP-Werte in Relation mit der Anzahl der mutierten Allele: Die CAP-Werte tendieren zu niedrigeren Werten, je mehr Mutationen vorhanden waren. Dieser Zusammenhang findet sich auch in den Korrelationsanalysen. Zwischen den drei verschiedenen Genotypausprägungen ergibt sich eine signifikante negative Korrelation mit den CAP-Werten. In der Regressionsanalyse zeigt sich dieses signifikante Ergebnis ebenfalls. In der weiteren Risikoeinstufung korreliert die Diagnose eines Diabetes mellitus Typ 2 mit dem Vorhandensein von zwei *MBOAT7*-Mutationen.

Laut Literatur stellt eine Mutation im *PNPLA3*-Gen ein Risiko für eine höhergradige Steatose und Fibrose dar (17). Eine *MBOAT7*-Mutation ist dahingegen mit starker Leberschädigung und ausgeprägter Fibrose vergesellschaftet, nicht aber mit einer vermehrten Steatose (20). Bei einer Mutation beider Gene könnte man erwarten, dass sich die Steatose nicht ändert aber die hepatische Fibrose in ausgeprägtere Stadien übergeht.

Diese Arbeit zeigte aber keine signifikante Vermehrung der Fibrose und eine tendenziell niedrigere hepatische Steatose bei doppelt homozygoten Mutationsträgern.

4.5. Schwächen der Arbeit

Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse dürfen nur unter Berücksichtigung von bestimmten Limitationen gesehen werden, die bei der Durchführung der Studie und der Analysen eine Rolle spielen.

Zum Einen ist es wichtig zu beachten, dass die Kohorte relativ klein ist, um signifikante Ergebnisse zu zeigen. Dies hängt damit zusammen, dass Träger einer doppelten p.I148M-Mutation im *PNPLA3*-Gen nur 7% der Patienten mit chronischer Lebererkrankung darstellen (16). Laut unseres Wissens umfasst diese Studie aber weltweit die größte Kohorte an *PNPLA3* p.I148M homozygoten Mutationsträgern.

Darüber hinaus erschwerten die fehlenden und ungenauen Angaben (vor allem zum Ernährungszustand) in den Krankenakten zum Beispiel die Diagnose des metabolischen Syndroms. Die Anzahl an gemessenen Laborwerte variiert außerdem von einem Patienten zum anderen, je nachdem was der behandelnde Arzt als notwendig und medizinisch relevant betrachtete. Dabei wurde angestrebt, diejenigen Laboruntersuchungen einzuschließen, die möglichst nah am Datum der VCTE-Messung lagen.

Des Weiteren zeigen die verwendeten bildgebenden Verfahren Grenzen. Eine Ultraschallmessung und die Gradeinteilung der Lebersteatose sind untersucherabhängig. Dabei ist die Trennschärfe nicht so gut wie bei der aktuellen noch als Goldstandard geltenden histologischen Untersuchung. « Bei milder Steatose beträgt der positive Vorhersagewert der Ultraschalluntersuchung maximal 67 % » (28). Die VCTE-Messung untersucht nur ein bestimmtes Volumen der Leber und ist dementsprechend nicht immer für den Zustand der gesamten Leber repräsentativ.

Da in dieser Kohorte alle Patienten homozygote *PNPLA3*-Mutationen haben, bietet diese Arbeit keinen Vergleich zu Patienten mit einer oder zwei Wildtypvarianten des *PNPLA3*-Gens.

Schließlich ist diese Arbeit eine retrospektive Studie und ermöglicht deshalb keine Einblicke in den Langzeitverlauf der Patienten.

4.6. Schlussfolgerung und Ausblick

Aus den vorliegenden Untersuchungen können zwei verschiedene Gruppen anhand ihrer Phänotypen unterschieden werden. Diese hängen von verschiedenen Risikofaktoren ab, die Ergebnisse der diagnostischen Untersuchungen unterscheiden sich und sind mit anderen Komplikationen verbunden.

Einerseits ist die hepatische Steatose mit dem weiblichen Geschlecht, einem jüngeren Alter und höheren BMI-Klassen und Scores zum metabolischen Syndrom verbunden. Die konsequente Erhöhung der CAP-Werte in der VCTE-Messung korreliert mit der sonographischen Beurteilung der Leberverfettung.

Andererseits korreliert die hepatische Fibrose mit dem männlichen Geschlecht, einem höheren Lebensalter und einer hohen Prävalenz des Diabetes mellitus Typ 2. Die berechneten Fibrose-Scores zeigen eine größere Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Fibrose sowie einer Zirrhose. Die Fibrose korreliert außerdem mit einer schlechteren Leberfunktion. Das Patientenkollektiv mit einer hepatischen Fibrose hat eine höhere Prävalenz für weitere Komplikationen wie Zirrhose und HCC.

Die *MBOAT7*-Allelausprägung zeigt bei *PNPLA3*-homozygoten Patienten keinen Zusammenhang mit den diagnostischen Fibrosemerkmalen oder mit weiteren Komplikationen der chronischen Fettlebererkrankung. In der Korrelations- und in der Regressionsanalyse zeigen sich dagegen negative Zusammenhänge zwischen der *MBOAT7*-Allelausprägung und der Höhe der CAP-Werte. Diese Befunde deuten an, dass im Rahmen einer *PNPLA3*-Homozygotie das zusätzliche Vorhandensein von einer bzw. von zwei Mutationen im *MBOAT7*-Gen keine signifikante Auswirkung auf die hepatische Fibrose mehr hat. Dies könnte daran liegen, dass das Patientenkollektiv bereits eine Hochrisikogruppe für die Entwicklung einer NAFLD ist. Dabei fällt aber ein Rückgang der Verfettung bei weiter fortgeschrittener Leberfibrose auf. Laut Morikawa et al. (21) ist bei Patienten mit einer NAFLD ein CAP-Wert unter 265 dB/m unabhängig vom LSM-Wert ein Risikofaktor für die Entstehung eines HCC. In dieser Arbeit zeigte sich, dass pro zusätzlich mutiertem *MBOAT7*-Allel die Höhe der CAP-Werte sinkt. Dieses Ergebnis korrelierte wiederum mit einer erhöhten HCC-Prävalenz. Dies könnte bedeuten, dass eine zur p.I148M-*PNPLA3*-Homozygotie hinzukommende *MBOAT7*-Genmutation mit einem höheren HCC-Risiko und somit mit einer schlechteren Prognose bei Patienten mit Fettlebererkrankung einhergeht.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1 Übersicht der Interaktionen zwischen den NAFL-begünstigenden Faktoren.
- Abbildung 2 Verschiedene Subtypen der NAFLD und Zusammenhänge zur Progression der Erkrankung.
- Abbildung 3 Histogramm der Altersverteilung des Patientenkollektivs.
- Abbildung 4 Kreisdiagramm zur Verteilung der Gewichtsklassen anhand des BMI bei den Männern.
- Abbildung 5 Kreisdiagramm zur Verteilung der Gewichtsklassen anhand des BMI bei den Frauen.
- Abbildung 6 Kreisdiagramm metabolisches Syndrom.
- Abbildung 7 Histogramm zur Verteilung der CAP-Werte.
- Abbildung 8 Histogramm zur Verteilung der LSM-Werte.
- Abbildung 9 Balkendiagramm zum Steatosegrad in der Sonographie.
- Abbildung 10 Kreisdiagramm zum Zirrhosestadium laut Arztbriefangabe.
- Abbildung 11 Boxplot zur Verteilung der ALT-Serumaktivitäten je nach Genotyp.
- Abbildung 12 Boxplot zur Verteilung der AST-Serumaktivitäten je nach Genotyp.
- Abbildung 13 Boxplot zur Verteilung der AP-Serumaktivitäten je nach Genotyp.
- Abbildung 14 Boxplot zur Verteilung der GGT-Serumaktivitäten je nach Genotyp.
- Abbildung 15 Boxplot zur Verteilung der Thrombozytenanzahl je nach Genotyp.
- Abbildung 16 Boxplot zur Verteilung der Albumin-Serumkonzentrationen je nach Genotyp.
- Abbildung 17 Boxplot zur Verteilung der Cholesterin-Serumkonzentrationen je nach Genotyp.
- Abbildung 18 Boxplot zur Verteilung der TG-Serumkonzentrationen je nach Genotyp.
- Abbildung 19 Boxplot zur Verteilung der FIB 4-Scores je nach Genotyp.
- Abbildung 20 Boxplot zur Verteilung der APRI-Scores je nach Genotyp.
- Abbildung 21 Boxplot zur Verteilung der CAP-Werte je nach Genotyp.
- Abbildung 22 Boxplot zur Verteilung der LSM-Werte je nach Genotyp.
- Abbildung 23 Boxplot zur Verteilung des Steatosegrad in der Sonographie je nach Genotyp.
- Abbildung 24 Balkendiagramm zur Ausprägung der Zirrhose je nach *MBOAT7*-Genotyp.
- Abbildung 25 Balkendiagramm zur Ausprägung der Zirrhose anhand des LSM-Werts je nach *MBOAT7*-Genotyp.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Bestimmung des NAFLD-Aktivitätsgrads (NAS) durch Bestimmung der Steatose-, Ballonierungs- und Entzündungsgrade
Tabelle 2	Häufigkeitstabelle Geschlecht
Tabelle 3	Häufigkeitstabelle BMI
Tabelle 4	Häufigkeitstabelle Diabetes mellitus Typ 2
Tabelle 5	Häufigkeitstabelle arterielle Hypertonie
Tabelle 6	Häufigkeitstabelle metabolisches Syndrom
Tabelle 7	Häufigkeitstabelle Ätiologie
Tabelle 8	Laborwerte für Männer
Tabelle 9	Laborwerte für Frauen
Tabelle 10	Weitere Laborparameter
Tabelle 11	Berechnete Fibrose-Scores
Tabelle 12	Bildgebende diagnostische Verfahren
Tabelle 13	Häufigkeitstabelle Zirrhose laut Arztbriefangabe
Tabelle 14	Häufigkeitstabelle Zirrhose nach LSM-Wert
Tabelle 15	Häufigkeitstabelle <i>MBOAT7</i> -Genotyp
Tabelle 16	Häufigkeitstabelle <i>MBOAT7</i> mit Gegenüberstellung von Wildtyp und heterozygoten mit homozygoten Mutationsträgern
Tabelle 17	Häufigkeitstabelle <i>MBOAT7</i> mit Gegenüberstellung von Wildtyp mit heterozygoten und homozygoten Mutationsträgern
Tabelle 18	Zusammenfassung aller berechneten Korrelationskoeffizienten
Tabelle 19	Multivariate Regression CAP
Tabelle 20	Multivariate Regression LSM
Tabelle 21	Multivariate Regression Zirrhose_AB
Tabelle 22	Multivariate Regression HCC
Tabelle 23	Multivariate Regression Albumin
Tabelle 24	Multivariate Regression AP
Tabelle 25	Multivariate Regression Thrombozyten

Literaturverzeichnis

1. Ahmed A, Wong RJ, Harrison SA. Nonalcoholic fatty liver disease review: diagnosis, treatment and outcomes. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2015, 13: 062-2070.
2. Arslanow A, Stokes CS, Weber SN et al. The common *PNPLA3* variant p.I148M is associated with liver fat contents as quantified by controlled attenuation parameter (CAP). *Liver International*, 2015, 1478-3223.
3. Arslanow A, Teutsch M, Walle H et al. Short-term hypocaloric high fiber and high protein diet improves hepatic steatosis assessed by controlled attenuation parameter. *Clinical and Translational Gastroenterology*, 2016, e176.
4. EASL, ALEH. Clinical Practice Guidelines for non invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of Hepatology*, 2015, 63 (1): 237-264.
5. Brunt EM, Wong VW, Nobili V et al. Nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 2015, 1-18.
6. Chan WK, Treeprasertsuk S, Goh GB et al. Optimizing use of nonalcoholic fatty liver disease Fibrosis Score, Fibrosis-4 Score, and Liver Stiffness Measurement to identify patients with advanced fibrosis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2019, 17 (12): 2570-2580.
7. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A et al. EFSUMB Guidelines and Recommendations on the clinical use of liver ultrasound elastography. *Ultraschall in Med*, 2017, 38: 377–394.
8. Dongiovanni P, Valenti L. Genetics of nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism*, 2016, 65: 1026-1037.
9. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S et al. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology*, 2008, 134: 960-974.
10. Hardy T, Oakley F, Anstee QM et al. Non-alcoholic fatty liver disease: pathogenesis and disease spectrum. *Annual Review of Pathology*, 2016, 11: 451-496.
11. Herzer K, Roeb E. Modernes Management und neue Herausforderungen bei Fettlebererkrankungen. *Kliniker*, 2016, 45: 596-601.
12. Kahali B, Liu YL, Daly AK et al. TM6SF2: Catch 22 in the fight against non-alcoholic fatty liver and cardiovascular disease? *Gastroenterology*, 2015, 148: 679-684.
13. Karlas T, Petroff D, Sasso M et al. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *Journal of Hepatology*, 2017, 66: 1022-1030.
14. Kim D, Kim WR, Kim HJ et al. Association between noninvasive fibrosis markers and mortality among adults with nonalcoholic fatty liver disease in the United States. *Hepatology*, 2013, 57: 1357-1365.

15. Kleiner DE, Bedossa P. Liver histology and clinical trials for nonalcoholic Steatohepatitis – Perspectives from 2 Pathologists. *Gastroenterology*, 2015, 149: 1305-1308.
16. Krawczyk M, Portincasa P, Lammert F. *PNPLA3*-associated steatohepatitis: toward a gene-based classification of fatty liver disease. *Seminars in Liver Disease*, 2013, 33: 369–379.
17. Krawczyk M and Lammert F. Genetik der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung. *Adipositas*, 2017, 11 (01): 09-12.
18. Krawczyk M, Rau M, Schattenberg JM et al. Combined effects of the *PNPLA3* rs738409, *TM6SF2* rs58542926, and *MBOAT7* rs641738 variants on NAFLD severity: a multicenter biopsy-based study. *Journal of Lipid Research*, 2017, 58: 247-255.
19. De Lédinghen V, Vergniol J, Foucher J et al. Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver International*, 2012, 32: 911-918.
20. Luukkonen PK, Zhou Y, Hyötyläinen T et al. The *MBOAT7* variant rs641738 alters hepatic phosphatidylinositols and increases severity of non-alcoholic fatty liver disease in humans. *Journal of Hepatology*, 2016, 65: 1261–1273.
21. Morikawa K, Izumi T, Sho T et al. Risk assessment of hepatocellular carcinoma in chronic liver disease patients with a combination of liver stiffness measurement and controlled attenuation parameter by FibroScan. *Journal of Hepatology*, 2018, 68: S445.
22. Papapostoli I, Lammert F, Stokes CS. Effect of short-term vitamin D correction on hepatic steatosis as quantified by Controlled Attenuation Parameter (CAP). *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 2016, 25: 175-181.
23. Perazzo H, Dufour JF. The therapeutic landscape of non-alcoholic steatohepatitis. *Liver International*, 2017, 37: 634-647.
24. Rinella ME. Nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review. *Journal of the American Medical Association*, 2015, 313: 2263-2273.
25. Rinella ME, Sanyal AJ. Management of NAFLD: a stage based approach. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2016, 13: 196-205.
26. Roeb E, Steffen HM, Bantel H et al. S2k-Leitlinie Nicht-alkoholische Fettlebererkrankungen. *Zeitschrift für Gastroenterologie*, 2015, 53: 668-723.
27. Sanyal AJ, Friedman SL, McCullough AJ et al. Challenges and opportunities in drug and biomarker development for NASH: findings and recommendations from an American Association for the Study of Liver Disease US Food and Drug Administration joint workshop. *Hepatology*, 2015, 61: 1392-1403.
28. Weiß J, Rau M, Geier A. Nicht-alkoholische Fettlebererkrankung: Epidemiologie, Verlauf, Diagnostik und Therapie. *Deutsches Ärzteblatt International*, 2014, 111: 447-452.

Veröffentlichungen

Die Ergebnisse dieser Promotion wurden, in Teilen, auf der 74. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) in Wiesbaden im Oktober 2019 und auf der 34. Jahrestagung der Gastroenterologischen Arbeitsgemeinschaft Rheinland-Pfalz/Saar (GARPS) in Bad Kreuznach im November 2019 vorgestellt und wie folgt publiziert:

Marie Schulte, Anita Arslanow, Susanne N. Weber, Frank Lammert & Marcin Krawczyk.

HSD17B13 hepatoprotective variant limits liver disease severity in homozygous carriers of the *PNPLA3* p.148MM risk genotype. Zeitschrift für Gastroenterologie 2019; 57(9): e277

Danksagung

Ich bedanke mich zu allererst bei meinem Betreuer und Doktorvater Professor Dr. Lammert für die Möglichkeit der Promotion in der Klinik für Gastroenterologie und Endokrinologie sowie für die ausgezeichnete Betreuung. Die gute Zusammenarbeit und die große Diskussionsbereitschaft von Professor Dr. Lammert ermöglichten eine effektive und sehr lehrreiche Arbeit.

Danke vielmals an Anita Arslanow für die Betreuung, Unterstützung und Motivation, die Hilfestellung bei Excel sowie mit den Fibroscan-Messungen. Danke ebenfalls für die kritische Durchsicht dieser Arbeit und für die schnellen Rückmeldungen.

Ebenfalls möchte ich mich bei Dr. Krawczyk für die Unterstützung und die Korrektur meiner Arbeit bedanken.

Ohne die produktive Kooperation in der Durchführung der Genotypbestimmung mit Friederike Reuner und Irina Nowak wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Danke für die Hilfsbereitschaft und Freundlichkeit.

Danke an Frau Wagenpfeil für die Hilfe und Erklärungen über das SPSS-Programm. Ihre Hinweise zur Durchführbarkeit der statistischen Analysen und die Überlegungen zur Auswertung des Datensatzes waren sehr großer Hilfreich.

Ein besonderer Dank an Louise Tibiletti für die stetige Hilfe und Unterstützung. Danke für dein offenes Ohr und für deine Unterstützung in allen Etappen dieser Doktorarbeit. Tu es la meilleure!

Meinen Eltern und meiner Familie möchte ich dafür danken, dass sie mich grenzenlos in allem unterstützen, egal wo der Weg hingeht. Je vous aime, merci pour tout!

Danke an alle, die in irgendeiner Form an dieser Arbeit direkt oder indirekt beteiligt waren