

Aus der Medizinischen Klinik für Gastroenterologie, Infektiologie und Rheumatologie (einschließlich Arbeitsbereich Ernährungsmedizin)  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Pathophysiologie der nichtalkoholischen Steatohepatitis –  
Eine Pilotstudie zur Bedeutung nutritiver, metabolischer und  
intestinaler Faktoren**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Isabelle Franziska Hoffmann

aus Berlin

Gutachter/in:      1. Prof. Dr. med. M. Pirlich  
                             2. Priv.-Doz. Dr. med. S. Diederich  
                             3. Priv.-Doz. Dr. med. M. Quinkler

Datum der Promotion: 07.09. 2012

**meinem Mann**

# I. Inhaltsverzeichnis

II.	Abkürzungsverzeichnis	
<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Nichtalkoholische Steatohepatitis	1
1.2	Prävalenz und Risikofaktoren der NASH	1
1.3	Diagnose, Klinik und Verlauf der nichtalkoholischen Steatohepatitis	4
1.4	Pathogenese der Steatose und Steatohepatitis	5
1.5	Bestimmung der Körperzusammensetzung	8
1.6	Energieumsatz des Menschen	9
1.7	Lipidstoffwechsel bei NASH-Patienten	9
1.8	Insulinresistenz bei NASH-Patienten, Adipokine	10
1.9	Permeabilität und bakterielle Besiedlung des Darmes	11
<b>2</b>	<b>Aufgabenstellung</b>	<b>13</b>
<b>3</b>	<b>Methodik</b>	<b>14</b>
3.1	Patienten und Kontrollpersonen	14
3.1.1	Ein- und Ausschlusskriterien	14
3.1.2	Basisdokumentation	15
3.2	Klinische Untersuchungsmethoden	15
3.2.1	Basisparameter des Ernährungszustandes	15
3.2.2	Bestimmung der Körperzusammensetzung	16
3.2.3	Energieumsatz	21
3.2.4	Energieumsatzmessung bei Aktivität	23
3.2.5	Ernährungsanamnese	24
3.2.6	Energiebilanz	24
3.3	Laboruntersuchungen	25
3.3.1	Basisparameter	25
3.3.2	Probengewinnung	25
3.3.3	Oraler Glucosetoleranztest	26
3.3.4	Insulin	27
3.3.5	HOMA-Index (Homeostasis Model Assessment)	27
3.4	Leberpunktion nach der Menghini-Technik	28
3.5	Darmpermeabilität	30
3.5.1	Intestinaler Permeabilitätstest	30
3.5.2	Sonographie des Darmes	31
3.5.3	Bestimmung von Calprotectin	32
3.6	Statistische Datenanalyse	33
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>35</b>
4.1	Screening	35
4.2	Charakterisierung von NASH-Patienten und gesunden Kontrollpersonen	36
4.3	Anamnestiche Daten und Metabolisches Syndrom	37
4.4	Ernährungszustand und Körperzusammensetzung	39
4.4.1	Anthropometrie	39
4.4.2	Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA)	42
4.4.3	Duale Röntgen-Absorptionsmessung (DXA)	44

4.5	Energieumsatz	44
4.5.1	Ruheenergieumsatz	44
4.5.2	Messungen des Energieumsatzes mit dem SensewearArmband	45
4.5.3	Vergleich von Ruheenergieumsatzmessung mittels indirekter Kalorimetrie und SensewearArmband	47
4.5.4	Korrelation zwischen Ruheenergieumsatz und Körperzusammensetzung	48
4.5.5	Drei-Tages-Ernährungsprotokoll	48
4.5.6	Energiebilanz	50
4.5.7	MET-Werte	51
4.6	Laborparameter	52
4.6.1	Blutbild	52
4.6.2	Leberwerte	53
4.6.3	Fettstoffwechsel	54
4.6.4	Glucosestoffwechsel	55
4.6.5	Weitere Laborparameter	57
4.7	Histologie der Lebergewebeproben	58
4.8	Veränderungen der Darmpermeabilität und -wanddicke	59
4.8.1	Intestinaler Permeabilitätstest	59
4.8.2	Sonographische Bestimmung der Darmwanddicken	60
4.8.3	Calprotectin aus einer Nativstuhlprobe	61
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>62</b>
5.1	Prävalenz der NASH	62
5.2	Insulinresistenz und Metabolisches Syndrom	63
5.3	NASH und kardiovaskuläre Erkrankungen	65
5.4	Aspekte der Diagnostik, Transaminasen und Histologie	66
5.5	Bedeutung des Ernährungszustands und der Körperzusammensetzung	68
5.6	Bedeutung des Energieumsatzes	70
5.7	Bedeutung der Ernährung	73
5.8	Bedeutung der Darmpermeabilität und –morphologie	74
5.9	Limitationen der vorliegenden Arbeit, Ausblick	76
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>78</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>80</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung</b>	<b>89</b>
<b>9</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>91</b>
<b>10</b>	<b>Erklärung</b>	<b>92</b>
<b>11</b>	<b>Publikationsliste</b>	<b>93</b>

## II. Abkürzungsverzeichnis

<b>Kürzel</b>	<b>Begriff</b>
$\alpha$	Phasenwinkel
AEE	Energieumsatz bei körperlicher Aktivität
AFA	Armfettfläche
AMA	Armmuskelfläche
BCM	Körperzellmasse
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
DXA	Dual X-ray Absorptiometry
ECM	Extrazellulärmasse
FFM	Fettfreie Masse
FM	Fettmasse
HOMA	Homeostasis Model Assessment
MAC	Oberarmumfang
MET	Metabolische Einheit
NAFLD	Nichtalkoholische Fettlebererkrankungen
NASH	Nichtalkoholische Steatohepatitis
R	Resistanz
REE	Grundumsatz, Ruheenergieumsatz
REE <sub>HB</sub>	Grundumsatz geschätzt nach Harris /Benedict [62]
REE <sub>Kalo</sub>	Grundumsatz bestimmt mit indirekter Kalorimetrie
REE <sub>SW</sub>	Grundumsatz bestimmt mit SensewearArmband
RQ	Respiratorischer Quotient
SOR	Substratoxidationsrate
TBF	Körperfettmasse
TBW	Gesamtkörperwasser
TEE	Gesamtenergieumsatz pro Tag
THF	Tricepshautfaltendicke
WC	waist circumference (Taillenumfang)
WHR	waist to hip ratio
Xc	Reaktanz
Z	Impedanz

## **1 Einleitung**

Die nichtalkoholische Steatohepatitis gehört zur Gruppe der Erkrankungen der nicht-alkoholischen Leberverfettungen. Ist auch die Morphologie der NASH schon gut charakterisiert, weist das Wissen über Epidemiologie, Ätiologie, Pathogenese, natürlichen Verlauf und Prognose noch zahlreiche Lücken auf [1].

### **1.1 Nichtalkoholische Steatohepatitis**

Eine Leberschädigung mit den typischen histopathologischen Veränderungen einer alkoholischen Pathogenese, ohne dass eine solche vorliegt, wurde erstmals 1962 beschrieben, wodurch nicht zuletzt die bis dahin häufige Fehleinschätzung und deren rechtliche und soziale Folgen für den Patienten mehr und mehr abnahmen. Den Terminus der nichtalkoholischen Steatohepatitis prägten J. Ludwig et al. 1980 und wiesen dabei auf die histopathologischen Ähnlichkeiten zwischen der alkoholischen Steatohepatitis (ASH) und der nichtalkoholischen Steatohepatitis (NASH) hin. Letztere zählt zu der Gruppe der nichtalkoholischen Fettlebererkrankungen (NAFLD, nonalcoholic fatty liver diseases). Zu dieser Gruppe der nichtalkoholischen Fettleberschäden gehören die Leberverfettung, bei der weniger als 50 % der Hepatozyten Fetttröpfchen enthalten, die Steatosis hepatis mit mehr als 50 % Fetttröpfchen enthaltenden Hepatozyten sowie die Steatohepatitis, die bis hin zur Leberzirrhose führen kann.

Außerdem wird in der Literatur eine primäre NAFLD, die als hepatische Manifestation des Insulinresistenzsyndroms bzw. des Metabolischen Syndroms gilt, von einer sekundären NAFLD unterschieden [2, 3]. Ursachen der letzteren sind medikamentöser, genetischer oder umweltbedingter Art [2]. In der vorliegenden Studie handelt es sich um Patienten mit einer primären NASH.

### **1.2 Prävalenz und Risikofaktoren der NASH**

Die nichtalkoholische Steatohepatitis ist heute ein eigenständiges Krankheitsbild mit gut definiertem epidemiologischem (Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms) und aetiologischem (Insulinresistenz) Kontext. Die wahre Prävalenz der NAFLD/NASH in der Normalbevölkerung

ist unbekannt und hängt maßgeblich von den verwendeten klinischen und histologischen Einschlusskriterien in den Studien ab [4]. Die nichtalkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) ist ein klinisch-pathologisches Syndrom und betrifft 20-30 % der Normalbevölkerung in unterschiedlichen Ländern [2, 5, 6] und 2,6 % der Kinder [5]. Von diesen Patienten entwickeln ca. 10 % eine NASH, die wiederum bei ca. 10 % in eine Leberzirrhose übergeht [6]. Die Prävalenz der NAFLD steigt um 58-74 % bei Adipösen (23-59 % bei Kindern) [5]. Bei der NASH wird die Prävalenz mit 3 % bei Normalgewichtigen [5] und mit 18-19 % bei Übergewichtigen und Adipösen [5, 7] angegeben. Ähnliche Daten zeigen Autopsieauswertungen [5].

Es scheint auch Unterschiede zwischen ländlichen und städtischen Regionen im Auftreten der NASH zu geben [8].

Ferner werden bei übergewichtigen Menschen differenter ethnischer Gruppen Unterschiede im Auftreten einer nichtalkoholischen Fettlebererkrankung beschrieben [9, 10]. Lateinamerikaner scheinen am häufigsten betroffen zu sein [9, 10].

Die NASH tritt gehäuft bei Übergewicht, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie auf. Die berichtete Prävalenz von Adipositas bei NASH-Patienten variiert zwischen 30-100 % [5, 11, 12], eine viszerale Adipositas kommt ebenfalls bei der Mehrheit (94 %) der Patienten vor [9]. Die Prävalenz von Diabetes mellitus wird mit 10-75 % [5, 11-13], die einer Insulinresistenz mit 94 % [12] und die Prävalenz einer Hyperlipidämie mit 20-96 % [5, 12] angegeben. Etwa 20 % der Patienten zeigen jedoch keinen dieser Risikoparameter. Das Vorkommen der NASH korreliert mit dem Grad der Adipositas [5]. Da die Prävalenz der Adipositas steigt, ist davon auszugehen, dass die Prävalenz der nichtalkoholischen Fettlebererkrankungen (NAFLD) zunehmen wird [14]. Das Metabolische Syndrom, welches das gemeinsame Auftreten oben genannter Risikofaktoren beschreibt, tritt bei NAFLD-Patienten nahezu doppelt so häufig auf wie bei der Normalbevölkerung [5, 15]. Bei NASH-Patienten kommt das „Wohlstandssyndrom“ in bis zu 88 % der Fälle vor [12, 16].

Die Prävalenz des Metabolischen Syndroms in Deutschland liegt bei Erwachsenen im Alter von 18 bis 99 Jahren zwischen 20-24 % [17]. Folglich leidet ungefähr jeder 5. Erwachsene unter dem Metabolischen Syndrom, wobei Männer etwas häufiger betroffen sind als Frauen (Männer 22,7-26,6 % und Frauen 18,0-21,0 %) [17]. Zusätzlich werden regionale Unterschiede beschrieben. So ist es bei ostdeutschen Frauen (21,1 %) häufiger als bei westdeutschen Frauen (17,7 %). Bei Männern ist dieser Unterschied nicht ganz so groß (ostdeutsche Männer 22,7 % und westdeutsche Männer 21,4 %) [17].



Tabelle 1 [18] fasst die häufigsten mit nichtalkoholischer Steatohepatitis (NASH) assoziierten Krankheitsbilder zusammen. Außerdem können, wie ebenfalls in Tabelle 1 ersichtlich, auch verschiedene Medikamente eine NASH bewirken.

Tabelle 1: mit NASH assoziierte Krankheitsbilder / Medikamente

<b>Metabolisches Syndrom</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Adipositas</li> <li>- Diabetes mellitus Typ II</li> <li>- Hyperlipidämie</li> <li>- Arterielle Hypertonie</li> </ul>
<b>Rascher Gewichtsverlust / Malabsorption</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jejuno-ileale Bypass-Operationen</li> <li>- Gastroplastik</li> <li>- Extensive Dünndarmresektion</li> <li>- Sprue</li> </ul>
<b>Totale parenterale Ernährung</b>	
<b>Medikamente / Toxine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Amiodarone</li> <li>- Tamoxifen /Toremifen</li> <li>- Synthetische Östrogene</li> <li>- Steriode</li> <li>- Isoniazid</li> <li>- Perhexinmaleat</li> <li>- 4,4` Diethylaminoethoxyhexestrol</li> <li>- Petrochemikalien</li> </ul>
<b>Jejunale Divertikulose mit bakterieller Überwucherung</b>	
<b>Angeborene Stoffwechselerkrankungen</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Morbus Wilson</li> <li>- Tyrosinämie</li> <li>- Abetalipoproteinämie</li> <li>- Hypobetalipoproteinämie</li> </ul>

Mehrere Expertengruppen haben klinische Kriterien für die Definition des Metabolischen Syndroms entwickelt. Es wird hier nur auf einige wichtige, wie die Definition durch die Weltgesundheitsorganisation (WHO), die Internationale Diabetes Vereinigung (Internationale Diabetes

Federation, IDF) und die NCEP ATP III (national cholesterol education program, adult treatment panel III) verwiesen [19]. Eine korrekte Identifikation ist obligat, weil Patienten mit einem Metabolischen Syndrom mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, v. a. bei bereits bestehendem Diabetes mellitus II behaftet sind [5, 16].

Überdies tragen Patienten mit NAFLD im Rahmen des Metabolischen Syndroms ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung einer NASH oder einer schweren Fibrose und Progredienz der Fibrose [2 - 4, 14]. Nicht selten wird von daher die nichtalkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) als die hepatische Manifestation des Metabolischen Syndroms angesehen [14, 15, 20, 21].

### **1.3 Diagnose, Klinik und Verlauf der nichtalkoholischen Steatohepatitis**

Die Diagnose der NASH erfolgt nach Ausschluss anderer chronischer genetischer, viraler, autoimmuner oder toxischer Lebererkrankungen mithilfe einer Leberbiopsie, die als unverzichtbar eingeschätzt wird [4, 14, 18]. Neben der histologisch auffallenden Steatosis mit fokaler Nekroinflammation finden sich gehäuft polymorphonukleäre und mononukleäre Leukozyteninfiltrationen, Mallory Bodies und eine perzelluläre hepatische Fibrose. Dabei ist laut einer Studie von Pinto et al. 2004 [4] die Nekroinflammation mit einem signifikanten Progressionsrisiko von einer Steatosis hepatis zu einer ausgeprägten Leberzirrhose oder einem hepatozellulären Karzinom (HCC) assoziiert.

Histologisch ist die NASH von der alkoholischen Steatohepatitis nur schwer abzugrenzen [18]. Die Differenzierung von der alkoholischen Steatohepatitis basiert auf dem anamnestischen Ausschluss eines vermehrten Alkoholkonsums [5, 18] und Fehlen von Laborparametern, die auf einen solchen hinweisen (CDT, MCV). Darüber hinaus ist das Verhältnis der Transaminasen AST/ALT (DeRitis-Quotient) wegweisend. Bei Patienten mit NASH ist die ALT fast immer höher als die AST (deRitis-Quotient  $< 1$ ), während bei der ASH der deRitis-Quotient meistens  $> 1$  ist. Insgesamt sind die Transaminasen meist wenig bis moderat erhöht [5, 12], können aber auch im Normbereich liegen [22]. 40-50 % der Patienten zeigen erhöhte Ferritinwerte und 6-11 % eine erhöhte Transferrinsättigung [5, 12].

NASH-Patienten sind subjektiv fast immer beschwerdefrei [12, 18], sodass es sich meist um einen Zufallsbefund handelt [5]. 48-100 % haben keine Krankheitssymptome, die anderen geben Abgeschlagenheit, Völlegefühl und abdominelle Beschwerden, meist im rechten oberen abdomi-

nellen Quadranten lokalisiert, an [5, 12]. Auch Patienten in histologisch weit fortgeschrittenen Stadien sind häufig beschwerdefrei [4, 5].

Bildgebende Verfahren, die Hinweise auf eine NAFLD bzw. eine NASH geben, sind die abdominelle Sonographie [4] mit Darstellung einer erhöhten Echogenität des Lebergewebes, die Computertomographie mit hypodensen Veränderungen im Bereich der Leber und insbesondere zur Quantifizierung der Steatosis hepatis die Kernspinuntersuchung [5, 23].

Die Mehrzahl der Patienten hat eine milde Verlaufsform mit geringer Progression [5], Verläufe mit progressiver Fibrose bis hin zur Leberzirrhose [18] und hepatozellulärem Karzinom (HCC) [20, 24] sind aber möglich. In prospektiven Studien entwickelten etwa 20 % - 40 % der Patienten mit Fettleber eine Leberzirrhose [25]. Patienten mit einer auf dem Boden einer NASH entstandenen Leberzirrhose haben ein deutliches Risiko, ein HCC zu entwickeln. 1990 wurde erstmals von einem Fall berichtet [24]. Malik et al. gaben unter NASH-Zirrhose-Patienten eine Prävalenz von 17 % für ein HCC an [24].

Schließlich ist daran zu denken, dass eine NASH durchaus gleichzeitig mit anderen Lebererkrankungen vorkommen kann. Dies ist bei Patienten mit chronischer viraler Hepatitis beschrieben worden, wobei die Koexistenz beider Erkrankungen die Krankheitsprogression und das Ansprechen auf eine antivirale Therapie negativ beeinflusst [18].

#### **1.4 Pathogenese der Steatose und Steatohepatitis**

Nach heutiger Kenntnis geht man davon aus, dass die multifaktoriell bedingte Ätiopathogenese der NASH auf der sogenannten „two-hits“-Hypothese basiert [26]. (Abbildung 1) Im Rahmen einer Adipositas, eines Diabetes mellitus Typ II oder einer Hyperlipidämie entwickelt sich häufig eine Steatosis hepatis, der sogenannte „first hit“. Hierbei resultieren mehrere Pathomechanismen in einer intrahepatischen Akkumulation von freien Fettsäuren [18]. Neben einer erhöhten intrahepatischen Fettsäuresynthese gibt es noch drei weitere Mechanismen, die maßgeblich zur Entstehung der Steatose und Steatohepatitis beitragen [26]. Dies ist zum einen ein erhöhter Fettsäuretransport zur Leber mit gesteigerter Fettsäureaufnahme. Dieser steht bei Übergewicht, Hyperlipidämie oder Prozessen mit einer Steigerung der Lipolyse im peripheren Fettgewebe, wie ein massiver Gewichtsverlust oder eine periphere Insulin-Resistenz im Vordergrund. Zum anderen die erniedrigte intrahepatische  $\beta$ -Oxidation, die ebenfalls durch eine Insulinresistenz oder eine Hyperinsulinämie hervorgerufen wird. Ferner zählen eine verminderte VLDL-Synthese und Exkretion, meist durch Mangelernährung mit Proteindefizit entstanden, dazu [26].

Die exakten Mechanismen, die den Progress der Steatosis zur Steatohepatitis und Fibrose bei einem Teil der Patienten verursachen, bei einem anderen Teil jedoch nicht, sind bisher unbekannt [18]. Nach heutigem Wissensstand sind mitochondriale Schädigungen und Sauerstoffradikale, die über oxidativen Stress, Lipidperoxidation und Zytokine zur Zellschädigung, Entzündung mit Aktivierung der Sternzellen und Fibrose bis hin zur Leberzirrhose führen, die wahrscheinlich wichtigsten Faktoren des „second hit“. Ob der oxidative Stress zu einer Leberzellschädigung und daraufhin sekundär zur Entzündung führt oder ob die Entzündung der primäre Mediator der Hepatozytenschädigung ist, wird noch diskutiert.

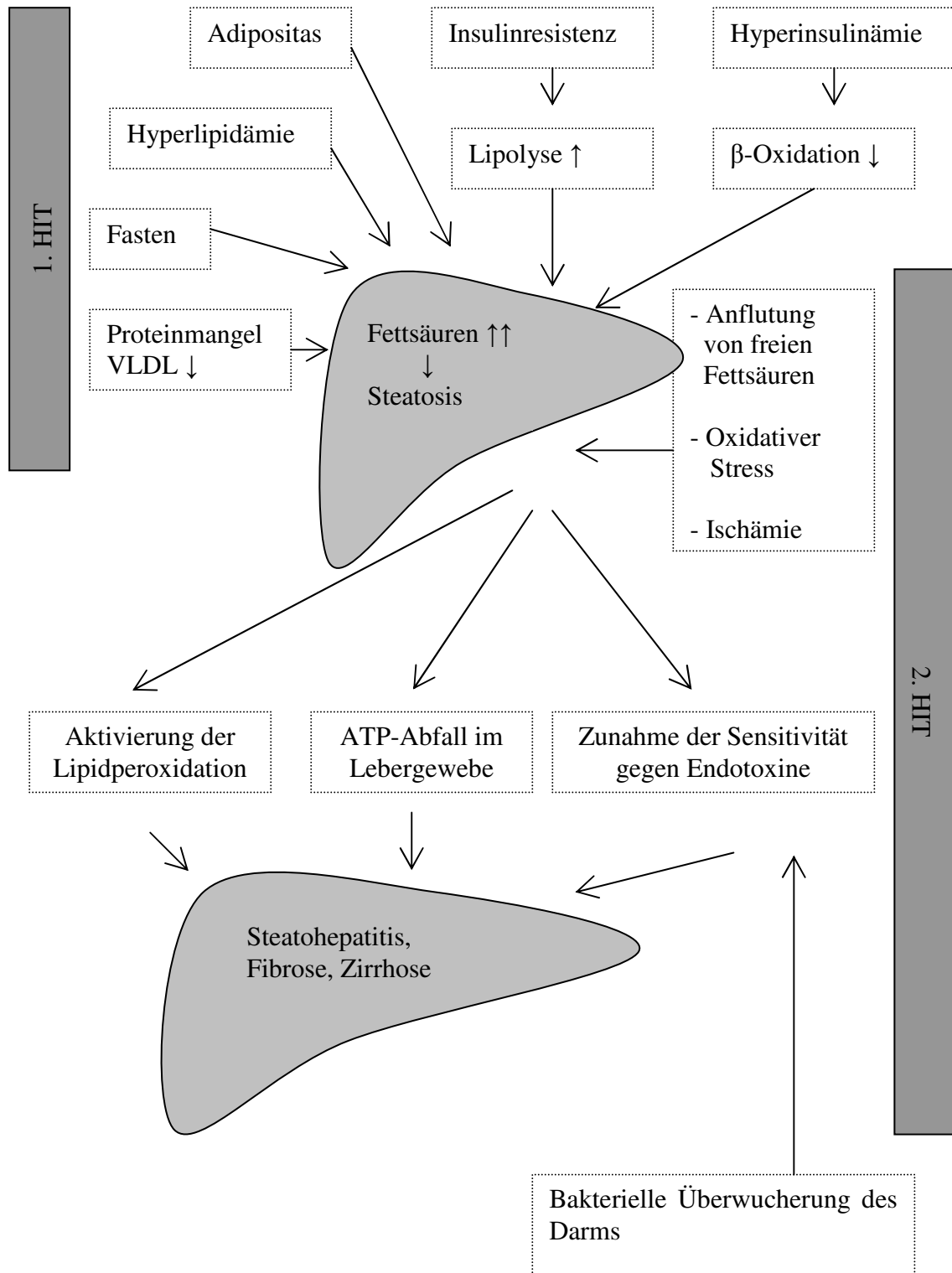


Abbildung 1: die als „two hits Hypothese“ stattfindende Pathogenese der NASH. modifiziert nach [26]

Für die Therapie der NASH existieren in Ermangelung kontrollierter Daten keine verbindlichen Richtlinien. Eine Insulinresistenz liegt bei der Mehrzahl der übergewichtigen, aber auch der normalgewichtigen Patienten vor, sodass Therapiestrategien zur Verbesserung der Insulinempfindlichkeit sinnvoll erscheinen. Die primäre Therapieempfehlung basiert daher auf einer Änderung des Lebensstils mit Reduktion des Körpergewichtes und der Kalorienzufuhr sowie Steigerung der körperlichen Aktivität [20, 27], gegebenenfalls durch eine fachkundige Ernährungs- und Fitnessberatung. Überdies wird aktuell eine konsequente Behandlung der Komponenten des Metabolischen Syndroms empfohlen.

## **1.5 Bestimmung der Körperzusammensetzung**

Veränderungen der Körperzusammensetzung treten bei einer Vielzahl von Erkrankungen auf. So ist z.B. ein Verlust der Körperzell- oder Muskelmasse ein frühes Merkmal der Tumorkachexie oder der Mangelernährung bei Leberzirrhose [28]. Auch bei Patienten mit NASH wurde in einzelnen Studien eine veränderte Körperzusammensetzung mit pathologischer viszeraler Fettverteilung beschrieben [15, 29], die offenbar auch prognostisch wichtig ist [30]. Arbeiten zu einer differenzierteren Betrachtung verschiedener Körperkompartimente wie z.B. der fettfreien Masse (FFM), der Körperzellmasse (BCM) oder der Fettmasse (FM) bei NASH sind uns aber nicht bekannt. Die BCM entspricht der eiweiß- und kaliumreichen, metabolisch aktiven Körpermasse, die maßgeblich für den Grundumsatz verantwortlich und auch eine Determinante der Insulinempfindlichkeit ist.

Denkbar wäre es, dass Patienten mit NASH im Vergleich zu Kontrollpersonen ohne Leberentzündung eine relativ verminderte BCM aufweisen, z.B. auch im Sinne der „sarcopenic obesity“. Diese geht mit einem erhöhten Körpergewicht, aber mit verminderter Muskelmasse und erhöhter Fettmasse einher. Nicht selten zählt eine Insulinresistenz dazu [31].

Messungen der BCM bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zeigen, dass die Körperzellmasse durchaus ein klinisch relevanter Parameter ist, durch dessen Bestimmung therapeutische Ansätze mit einem klinischen Benefit für den Patienten erzielt werden können [32].

In der vorliegenden Arbeit wurde die Körperzusammensetzung sowohl basierend auf einem Zwei- als auch einem Dreikompartimentmodell bestimmt. Beim Zweikompartimentmodell wurden sowohl mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) als auch mittels Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometry (DXA) die Fettmasse und Fettfreie Masse bestimmt. Im Dreikompartimentmodell wurde mittels BIA zusätzlich die FFM in Körperzellmasse (BCM) und extrazelluläre Masse

(ECM) differenziert. Ergänzend erfolgte die Bestimmung der Fettverteilung durch anthropometrische Messungen (Taillenumfang bzw. waist-to-hip-ratio).

## **1.6 Energieumsatz des Menschen**

Heutzutage findet man in nahezu allen Industrienationen der Welt ein enormes Überangebot an Nahrung, woraus eine zunehmende krankhafte Fehl- und Überernährung der Menschen resultiert. Im Weiteren kann diese übermäßige Zufuhr von Nahrung zu krankhaften Folgeerscheinungen wie Adipositas und diese wiederum zu einer Steatosis hepatis bis hin zur nichtalkoholischen Steatohepatitis führen. Zum exakten Ernährungsverhalten von NASH-Patienten gibt es jedoch bisher kaum Daten. Vor diesem Hintergrund wurde die Hypothese aufgestellt, dass die übergewichtigen NASH-Patienten der vorliegenden Pilotstudie eine zu hohe Nahrungszufuhr, entsprechend einer positiven Energiebilanz aufweisen. Inwieweit dabei Auffälligkeiten in der Zufuhr der drei Hauptnährstoffe oder eine erhöhte Substratoxidationsrate eine Rolle spielen, waren zusätzliche Fragen, die in dieser Arbeit geklärt werden sollten.

Energiezufuhr und Energieumsatz sind sich ergänzende Komponenten, die zusammenhängend betrachtet werden müssen.

Aus diesem Grunde sowie in Ermangelung an Daten zum Energiebedarf und Energieumsatz bei NASH-Patienten erfolgten in der vorliegenden Pilotstudie Messungen zum Energieumsatz in Ruhe, bei körperlicher Aktivität und pro 24h. Dabei stand die Frage im Mittelpunkt, ob Veränderungen des Energieumsatzes in Ruhe, bei Aktivität oder Veränderungen der Substratoxidationsraten eine Rolle in der Entstehung der NASH spielen.

## **1.7 Lipidstoffwechsel bei NASH-Patienten**

Neben dem insulinabhängigen Diabetes mellitus [29] gilt die Hyperlipidämie [15, 33] als weiterer prädisponierender Faktor für die nichtalkoholische Steatohepatitis. Studienabhängig haben 20-96 % der NASH-Patienten neben einer Hypertriglyceridämie eine Hypercholesterinämie [5, 12].

Einen wichtigen Aspekt stellen wohl hauptsächlich Nachschub und Aufnahme freier Fettsäuren in die Leber dar („second hit“). Ist das Angebot von freien Fettsäuren zu groß, kommt es zu einer starken Aktivierung des Fettstoffwechsels, der die anflutenden Fette dann nicht mehr abbaut. Es

resultiert eine intrazelluläre Akkumulation von Triglyceriden und ein massiver Anfall freier Radikale (= oxidativer Stress).

Außerdem kann die NASH mitunter neben einer Triglyceridämie auch mit einer erhöhten Plasmakonzentration von gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren [11] und einer deutlich höheren LDL und Cholesterin/HDL-Ratio einhergehen [34].

## **1.8 Insulinresistenz bei NASH-Patienten, Adipokine**

Allgemein versteht man unter der Insulinresistenz ein vermindertes Ansprechen der Zellen des menschlichen Körpers auf Insulin. Vor allem die Muskulatur, die Leber und das Fettgewebe reagieren weniger empfindlich auf Insulin. Diese reduzierte Sensibilität der Körperzellen auf Insulin beeinträchtigt die Wirkung sowohl des körpereigenen als auch von verabreichtem Insulin. Die Insulinresistenz ist die Hauptursache des Typ-2-Diabetes und sie lässt sich zuverlässig mit dem HOMA-Index nachweisen [35]. Ein hoher HOMA-Index ist mit einem erhöhten Risiko eines Metabolischen Syndroms assoziiert und tritt bei der Mehrzahl der NAFLD-Patienten auf [5]. Überdies werden bei einer NAFLD, einer NASH oder einer NASH-Fibrose häufig eine Hyperinsulinämie und eine Insulinresistenz beobachtet [2, 3, 29, 36], während die Nüchtern-glucose meist unverändert ist [15, 33]. Über das Stadium der NASH lässt eine Insulinresistenz nicht immer Aussagen zu [37]. Trotzdem gilt ein hoher HOMA-Index als unabhängiger prädiktiver Risikofaktor zur Beurteilung einer Progression der Leberfibrose [38] oder nekroinflammatorischer Veränderungen [29].

An der Entstehung der Insulinresistenz sind die Inhibierung der Lipidoxidation sowie eine gesteigerte Synthese der freien Fettsäuren und der Triglyceride beteiligt. Darüber hinaus sind mit der Insulinresistenz verbundene Erkrankungen wie eine Adipositas oder ein Diabetes mellitus Typ 2 (DM Typ 2) durch eine veränderte Produktion von Adipokinen (z.B. Adiponectin, Leptin, Resistin, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$  und plasminogen activator inhibitor1) charakterisiert. Dabei weisen NAFLD und NASH-Patienten neben reduzierten Plasmakonzentrationen von Adiponectin [15, 29, 33, 39], einem in den Lipozyten gebildeten und antiinflammatorisch wirkenden Protein, auch eine erniedrigte Expression von Adiponectin im Fettgewebe auf [15, 33, 39]. Jedoch sind auch bei adipösen Menschen nach Ausschluss einer NAFLD erniedrigte Adiponectinkonzentrationen zu finden [33]. Bei leichtgradiger Steatosis (Grad I nach Brunt) wurden höhere Plasmakonzentrationen von Adiponectin gemessen als bei höhergradiger Steatosis (Grad 2 oder 3 nach Brunt) [15, 36, 40] oder ausgeprägter Nekroinflammation des Lebergewebes [29]. Umstellungen der



Ernährungsgewohnheiten, wie sie bei der NAFLD empfohlen werden, haben bisher keine Änderungen der Adiponectinkonzentrationen gezeigt [15].

Während Resistin, ein ebenfalls in den Fettzellen gebildetes Protein, nicht zwingend mit einem erhöhten HOMA-Index und damit einer Insulinresistenz einhergeht [33], wird es je nach Studienlage bei NAFLD-Patienten sowohl im Plasma und im Fettgewebe in normalen [41] oder in erhöhten [33] Konzentrationen nachgewiesen. Zusätzlich erwähnt sei, dass bei nichtalkoholischer Steatohepatitis höhere Konzentrationen an Resistin beobachtet wurden als bei einfacher nichtalkoholischer Fettleber, so dass Resistin möglicherweise ein wichtiger Parameter ist, um Aussagen über die Progression einer NAFLD machen zu können [33].

Leptin zeigt keine Unterschiede zwischen Patienten mit NAFLD und gesunden Kontrollen [33, 36, 38, 41, 42] oder nur in kleinen Subgruppen (z.B. nur männliche NASH-Patienten) einer Studie [29]. Es wird aber bei übergewichtigen Personen häufig in erhöhten Konzentrationen nachgewiesen [33, 39] oder korreliert positiv mit dem viszeralen Fettgewebe [42]. Auch eine Assoziation der Leptinkonzentration mit einem fortgeschrittenen Stadium der NAFLD wird diskutiert [41].

Auch eine Assoziation von erhöhten [29] oder unauffälligen [36] Serumkonzentrationen von TNF $\alpha$  mit der NAFLD und NASH wird beschrieben, Einflüsse auf eine progrediente Entzündung des Lebergewebes scheint der TNF $\alpha$  jedoch nicht zu haben [29].

## **1.9 Permeabilität und bakterielle Besiedlung des Darmes**

Unter der gastrointestinalen Permeabilität wird die Durchlässigkeit der Darmmucosa für verschiedene Substanzen verstanden. Wenn sie pathologisch erhöht ist, bedeutet dies eine erhöhte Exposition der Darmmucosa für luminale Antigene, der lokalisierte oder systemische Erkrankungen folgen können.

Die Rolle des Darmes bei der nichtalkoholischen Steatohepatitis ist immer noch ein weites nicht bis zuletzt geklärtes Thema, obwohl in tierischen und menschlichen Studien bereits dargelegt wurde, dass insbesondere aus dem Darm stammende Endotoxine eine sehr entscheidende Funktion in der Pathophysiologie der NASH besitzen [43, 44].

Weiterhin wird eine erhöhte intestinale Permeabilität, die auf einer Schädigung von tight junctions beruht, als Ursache für eine Leberverfettung diskutiert [43].

Die mögliche Bedeutung einer veränderten gastrointestinalen Permeabilität für die Pathophysiologie der nichtalkoholischen Steatohepatitis wurde in der vorliegenden Pilotstudie weiter er-

forscht. Denkbar ist unter anderem, dass bei NASH ähnlich wie bei der chronischen Herzinsuffizienz ein Darmwandödem mit erhöhter Darmwanddicke für eine erhöhte Darmwandpermeabilität [45] die Ursache ist. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb der Frage nachgegangen, ob NASH-Patienten morphologische und funktionelle Veränderungen der Darmwand aufweisen.

## 2 Aufgabenstellung

Die Gefahr des Progresses der nichtalkoholischen Steatohepatitis zur Leberfibrose bis hin zum hepatozellulären Karzinom, ihre Zunahme als typische Wohlstandserkrankung und der Mangel an spezifischen therapeutischen Optionen machen die NASH zu einer wichtigen und forschungsrelevanten Erkrankung [26].

Neben einer Vielzahl bereits ausgiebig erforschter Aspekte der NASH, wie z.B. die pathologischen Kriterien, die Abgrenzung von anderen Lebererkrankungen, die Prävalenz und einige der metabolischen Risikofaktoren, gibt es immer noch Bereiche, denen mehr Aufmerksamkeit gebührt. In der vorliegenden Dissertation standen insbesondere die Körperzusammensetzung, das Ernährungsverhalten und der Energiebedarf sowie intestinale Faktoren bei NASH-Patienten im Vordergrund. Hierzu wurden folgende zentrale Fragen aufgestellt:

Weisen Patienten mit NASH im Vergleich zu gematchten lebergesunden Kontrollpersonen Unterschiede in der Körperzusammensetzung auf? Liegen eine Reduktion der fettfreien Masse bzw. der Körperzellmasse und eine Erhöhung der Fettmasse vor?

Haben Patienten mit NASH einen verminderten Energieumsatz in Ruhe oder bei körperlicher Aktivität? Waren die Substratoxidationsraten verändert?

Haben Patienten mit NASH ein auffälliges Ernährungsverhalten bezüglich der Makronährstoffrela-tion?

Sind die Darmmorphologie (sonographisch bestimmte Darmwanddicke) und die Darmbarrierefunktion (Darmpermeabilität) relevante Einflussfaktoren für die Entstehung der NASH?

Außerdem wurde untersucht, ob auch bei unseren NASH-Patienten generell eine Insulinresistenz vorlag und in welchem Ausmaß Merkmale des Metabolischen Syndroms auftraten. Dabei wurde zusätzlich untersucht, ob sich übergewichtige NASH-Patienten in metabolischen Kriterien von gesunden alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Personen unterscheiden.

### **3 Methodik**

Die vorliegende Untersuchung wurde als prospektive Studie im Zeitraum von Dezember 2005 bis August 2006 an der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin durchgeführt.

Das Studienprotokoll vom 11.07.2001 wurde durch die Ethikkommission der Charité genehmigt und nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

#### **3.1 Patienten und Kontrollpersonen**

Alle Patienten und Kontrollpersonen waren älter als 18 Jahre und gaben nach einer ausführlichen Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis zur Erhebung und Auswertung ihrer Daten und fühlten sich physisch und psychisch zur aktiven Teilnahme in der Lage.

##### **3.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien**

Rekrutiert wurden insgesamt 32 Patienten der Medizinischen Poliklinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin mit einer seit mindestens sechs Monaten bestehenden unklaren Transaminasenerhöhung begleitet von einer in der Abdomensonographie nachgewiesenen Leberparenchymverfettung. Patienten mit einer chronischen alkoholischen, viralen, autoimmunen oder genetischen Lebererkrankung wurden ausgeschlossen. Hierzu diente neben anamnestischen und laborchemischen Parametern vor allem die nach den Brunt-Kriterien [46] befundete Biopsie der Leber.

Patienten mit einem täglichen Alkoholkonsum oberhalb der tolerierbaren oberen Alkoholzufuhrmenge laut Deutscher Gesellschaft für Ernährung (DGE) wurden ebenfalls ausgeschlossen. Die DGE definiert eine Alkoholzufuhr in Höhe von 20 g pro Tag für Männer bzw. 10 g pro Tag für Frauen als Höchstmenge für einen gesundheitlich verträglichen Alkoholkonsum [47].

Für vergleichende Untersuchungen wurde per Aushang auf dem Gelände der Charité eine Gruppe von 25 gesunden übergewichtigen Probanden mit einem Body-Mass-Index (BMI) von 25 – 42 kg/m<sup>2</sup> und mit unauffälligen Leberwerten eingeschlossen. Im Anschluss daran erfolgte ein Matching mit folgenden Matchingkriterien: Geschlecht, BMI (+/- 4) und Alter (+/- 10 Jahre).

Personen mit stoffwechselaktiven Erkrankungen wie Diabetes mellitus und Schilddrüsendysfunktion sowie Personen mit einem Alkoholabusus oder regelmäßiger Einnahme von Kortikosteroiden, Schmerzmitteln oder Diuretika wurden ausgeschlossen.

### **3.1.2 Basisdokumentation**

Neben einer ausführlichen Anamnese mit Erhebung von Alter, Geschlecht, Haupt- und Nebendiagnosen sowie der Einnahme von Medikamenten, wurden Erkrankungen in der Familie hinsichtlich des Metabolischen Syndroms (essentielle Hypertonie, Dyslipoproteinämie, Glucosetoleranzstörung und stammbetonte Adipositas) dokumentiert.

Der sozioökonomische Status umfasste Fragen nach Staatsangehörigkeit, Familienstand, Wohnsituation und Beruf.

Risikofaktoren wie Alkohol und Nikotin wurden erfragt und quantifiziert. Das Trinkverhalten wurde als Drinks pro Woche abgeschätzt. Ein Drink wurde dabei mit ca. 14 g Alkohol angegeben, entsprechend 160 ml Wein, 360 ml Bier oder 50 ml Spirituosen [48]. Bei Rauchern wurde der Konsum von Zigaretten pro Tag ermittelt.

## **3.2 Klinische Untersuchungsmethoden**

### **3.2.1 Basisparameter des Ernährungszustandes**

Die Körpergröße wurde auf 0,5 cm genau mit Hilfe einer genormten Messlatte gemessen. Die Person stand dabei barfuß mit aufrechtem, geradem Kopf an der Messlatte, die Schulterblätter berührten die Vertikale und die Fersen den Boden. Mittels einer geeichten Stationswaage (Seca, Hamburg) wurde das Körpergewicht auf 100 g genau in leichter Bekleidung erhoben. Das Gewichtsverhalten im Verlauf der letzten sechs Monate wurde erfragt. Anschließend wurde aus Größe und Gewicht der Body-Mass-Index nach der standardisierten Formel

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht [kg]} / (\text{Körpergröße [m]})^2$$

errechnet. Nach Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) 2007 gilt ein BMI von  $>25$   $\text{kg}/\text{m}^2$  als Indikator für Übergewicht (Tabelle 2).

Tabelle 2: Body Mass Index für Erwachsene über 20 Jahre [49]

BMI [ $\text{kg}/\text{m}^2$ ]	Ernährungszustand
$< 18,5$	Untergewicht
18,5 - 24,9	Normalgewicht
25,0 - 29,9	Übergewicht
30,0 – 34,9	Adipositas Grad 1
35,0 - 39,9	Adipositas Grad 2
$\geq 40$	Adipositas Grad 3

Adipositas ist gemäß der Adipositas-Leitlinie (Version 2007) [50] definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts. Berechnungsgrundlage für die Gewichtsklassifikation ist der Körpermassenindex (BMI).

### 3.2.2 Bestimmung der Körperzusammensetzung

Für die Analyse der Körperzusammensetzung wurde neben den Methoden Anthropometrie mit Berechnung der waist-to-hip-ratio und Bioelektrische Impedanzanalyse, die beide in der ernährungsmedizinischen Praxis etabliert sind [51, 52], die DXA-Messung angewendet.

#### 3.2.2.1 Anthropometrie

Die Anthropometrie basiert auf der Messung der Hautfaldendicke sowie der Messung von Umfängen an standardisierten Lokalisationen und liefert Messwerte für die Fettmasse (TBF) und die Muskelmasse, woraus neben der fettfreien Masse ( $\text{FFM} = \text{Körpergewicht} - \text{TBF}$ ) die Fettverteilung abzuleiten sind.

Die Hautfaltenmessungen wurden an der nichtdominanten Körperseite mit einem geeichten Harpenden-Präzisionskaliper (Holtain LTD, Crymich, Großbritannien), das einen konstanten Druck

von 10 g/mm<sup>2</sup> ausübt, an vier Hautfalten, und zwar am Musculus trizeps und am Musculus biceps des Oberarmes exakt über der Mitte des Acromions und des Olecranon sowie subscapular an der natürlichen schrägen Hautfalte etwa 1 cm unterhalb des Angulus inferior scapulae und suprailiacal 1-2 cm oberhalb des Beckenkamms in der Medioaxillarlinie vorgenommen.

Neben dem Oberarmumfang am entspannten, nichtdominanten Oberarm ebenfalls exakt über der Mitte des Acromions und des Olecranon wurden der Taillenumfang in der Mitte von Rippenbogen und Darmbeinkamm und der Hüftumfang auf der Höhe der Trochanteren mit Hilfe eines flexiblen Maßbandes bestimmt.

Für weitere Berechnungen wurde jeweils der Mittelwert aus drei Einzelmessungen herangezogen. Bei korrekter Durchführung wird für die Anthropometrie eine Messungengenauigkeit mit einem Fehler von 0,2 mm angegeben.

Die Fettmasse TBF errechnet sich aus einem nach Durnin und Womersley 1974 [53] publizierten Algorithmus, in den auch die Körperdichte D in [x 1000 kg/m<sup>3</sup>] eingeht und sich folgenderweise errechnet:

$$\text{Fettmasse TBF [kg]} = (4,95 / D - 4,50) \times \text{Körpergewicht KG [kg]}$$

In Tabelle 3 sind die Algorithmen zur Berechnung der alters- und geschlechtsadaptierten Körperdichte D nach Durnin [53] dargestellt.

Tabelle 3: Formeln zur Errechnung der Körperdichte nach Durnin (M = Hautfaltensumme)

Männer	Alter	Frauen
1,1620-0,0630*(log M)	17-19 Jahre	1,1549-0,0678*(log M)
1,1631-0,0632*(log M)	20-29 Jahre	1,1599-0,0717*(log M)
1,1422-0,0544*(log M)	30-39 Jahre	1,1423-0,0632*(log M)
1,1620-0,0700*(log M)	40-49 Jahre	1,1333-0,0612*(log M)
1,1715-0,0779*(log M)	>50 Jahre	1,1339-0,0645*(log M)

Die fettfreie Masse ergibt sich aus der Formel:

$$\text{Fettfreie Masse FFM [kg]} = \text{Körpergewicht KG [kg]} - \text{Fettmasse TBF [kg]}$$

Unter Berücksichtigung von mittlerem Oberarmumfang (MAC) und Trizephshautfaltendicke (THF) wurden die korrigierte Armmuskelfläche (AMA) und die Armfettfläche (AFA) nach Formeln von Gurney & Jelliffe 1973 [54] errechnet und anschließend entsprechend den Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsmedizin (DGEM) [55] mit Perzentilenkurven nach Frisancho et al. [56] verglichen.

$$\text{Armmuskelumfang (AMC) [cm]} = \text{MAC [cm]} - \pi * \text{THF [cm]}$$

$$\text{Armmuskelfläche (AMA) [cm}^2\text{]} = \text{AMC [cm]}^2 / 4\pi$$

Ausgehend von der 10. Perzentile als Untergrenze und der 90. Perzentile als Obergrenze bei Gesunden, war anhand dieser alters- und geschlechtsspezifischen Perzentilen eine Beurteilung des Ernährungszustandes möglich.

Zur Bestimmung des Fettverteilungsmusters erfolgte die Berechnung der waist-to-hip-ratio, die gemäß der International Diabetes Federation als wichtiger Risikofaktor für die Definition des Metabolischen Syndroms gilt [19]. Als pathologisch wird hierbei ein Taillenumfang von  $\geq 80$  cm für Frauen und  $\geq 94$  cm für Männer [19] bzw. eine waist-to hip-ratio von  $\geq 0,85$  bei Frauen und  $\geq 0,90$  bei Männern in der europäischen und nordamerikanischen Population betrachtet [19].

$$\text{Waist-to-hip-ratio} = \text{Taillenumfang [cm]} / \text{Hüftumfang [cm]}$$

### 3.2.2.2 Bioelektrische Impedanzanalyse

Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) ist eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung der Körperzusammensetzung und stellt eine schnelle, zuverlässige, kostengünstige und -außer bei Patienten mit implantierten Herzschrittmachern- eine gesundheitlich unbedenkliche Methode dar [28].

Sie basiert auf der elektrischen Widerstandsmessung im menschlichen Körper, wobei über zwei Elektrodenpaare, die an Hand und Fuß der dominanten Körperhälfte angelegt werden, ein schwacher, hochfrequenter Wechselstrom (800  $\mu$ A, 50 kHz) durch den Körper des Patienten geleitet und so ein homogenes elektrisches Feld erzeugt wird.

Die Impedanz (Z) eines biologischen Leiters ist der Ohmsche Gesamtwiderstand in einem elektrischen Wechselstromfeld mit konstanter Stromstärke. Sie setzt sich zusammen aus der Resis-



tanz (R) (Ohmscher Widerstand des Gesamtkörperwassers) und der Reaktanz (Xc) (kapazitiver Widerstand durch die Kondensatoreigenschaften der Zellmembranen), die mittels phasensensitiver Elektronik in modernen BIA-Geräten differenziert werden können. Diese Unterscheidung der Teilkomponenten wird durch die Messung des Phasenwinkels  $\alpha$ , der die Zeitverschiebung zwischen Strommaximum und Spannungsmaximum beschreibt, ermöglicht.

Diese Phasenverschiebung ist abhängig von der Zellgröße, Zellmembranpermeabilität sowie der Verteilung der Körperflüssigkeiten.

Das Verhältnis der Resistanz und der Reaktanz zueinander ist mathematisch definiert:

$$Z^2 = R^2 + Xc^2$$

Aus R und Xc sowie weiterer personenspezifischer Daten lassen sich folgende Körperkompartimente errechnen: Gesamtkörperwasser (TBW), fettfreie Masse (FFM), Fettmasse (TBF), Körperzellmasse (BCM), extrazelluläre Masse (ECM) und der prozentuale Zellanteil.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Multifrequenzgerät (BIA 2000-M der Firma Data Input, Darmstadt) verwendet und die Werte der einzelnen Kompartimente berechnet. Um eine Reproduzierbarkeit der Daten zu gewährleisten und Fehlerquellen zu minimieren, erfolgten die Messungen unter standardisierten Bedingungen [57]. Der Patient lag vor der Messung 10-15 Minuten flach und ausgestreckt auf dem Rücken. Eine stärkere körperliche Belastung, Nahrungszufuhr sowie Rauchen 2-4 Stunden vor der Messung mussten ausgeschlossen werden. Arme und Beine waren leicht abgespreizt, eventuell wurde isolierendes Material (Handtuch) zwischen die Beine gelegt, um elektrische Kurzschlüsse zu vermeiden. Nach Reinigung und Entfettung der Haut wurden jeweils zwei Spezialelektroden (Bianostic®) auf definierte Lokalisationen an Hand und Fuß angebracht.

In der vorliegenden Arbeit wurden folgende Formeln verwendet:

TBW: Das Gesamtkörperwasser wurde aus der gemessenen Resistanz nach der Formel von Kushner et al. ermittelt [58].

TBW: Männer:  $0,396 * (H^2 / R) + 1,143 * KG + 8,399$

Frauen:  $0,382 * (H^2 / R) + 0,105 * KG + 8,315$

(H = Körpergröße in cm, KG Körpergewicht in kg)

FFM: Die Magermasse wurde aus dem Körperwasser abgeleitet, eine Hydratisierung von 73,2 % wird vorausgesetzt.

$$\text{FFM} = \text{TBW} / 0,732$$

FM: Die Fettmasse wird indirekt als Differenzbetrag zwischen Körpergewicht und Magermasse bestimmt.

$$\text{FM} = \text{Körpergewicht} - \text{FFM}$$

BCM: Die Körperzellmasse wird aus der Magermasse nach Shizgal [59] abgeleitet.

$$\text{BCM} = \text{FFM} \times \text{Phasenwinkel } \alpha \times 0,29$$

### 3.2.2.3 Röntgenabsorptionsmessung (DXA - Dual Energy X-ray Absorptiometry)

Das ursprünglich zur Bestimmung der Knochenmineraldichte (in  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) und des Knochenmineralgehaltes entwickelte DXA-Verfahren wird seit einiger Zeit auch zur Analyse der Körperfettmasse und der Magermasse und deren prozentuale Anteile in einem Körper bzw. in Körperteilen genutzt. Bei diesem nicht-invasiven Verfahren werden Ganzkörperscans mit einem fächerförmigen Röntgenstrahl in zwei unterschiedlichen Energieniveaus angefertigt. Durch die dabei abgeordneten alternierenden Röntgenstrahlen entstehen qualitativ hochwertige Bilder, mittels derer der Körper hinsichtlich seiner Gewebzusammensetzung analysiert werden kann [Mitchell und Scholz (2001)]. Das Grundprinzip der Datenerfassung mittels DXA-Scan beruht auf dem unterschiedlichen Absorptionsverhalten von Knochen, Muskeln, Wasser und Fett bei verschiedenen energetischen Strahlungen. Aus den Absorptionsmustern des Körpers wird mittels Computeranalyse die Gewebzusammensetzung errechnet. Ein eingesetzter Kühlerstrahl erlaubt sehr kurze Abtastzeiten, so dass eine DXA-Untersuchung nur wenige Sekunden bis Minuten dauert.

In der vorliegenden Studie wurden bei insgesamt 20 Patienten sowie 11 gesunden Kontrollpersonen mit einem Alter über 40 Jahre DXA-Messungen durchgeführt. Benutzt wurde hierfür ein Lunar Prodigy (Lunar Radiation Company, Madison, WI, USA). Die Geschwindigkeit des Ganzkörperscans lag bei 16 cm Körperlänge/min, die mittlere Strahlenbelastung bei ca. 0,75  $\mu\text{Sv}$ , was ungefähr einem Fünfzigstel einer Röntgenaufnahme des Thorax entspricht bzw. bei etwa 0,5 % der in der Bundesrepublik Deutschland natürlich vorkommenden jährlichen Strah-

lenbelastung. Alle Patienten und Kontrollpersonen gaben nach umfassender Aufklärung durch fachkundiges Personal ihr schriftliches Einverständnis.

### 3.2.3 Energieumsatz

Der Energieumsatz des Menschen wird durch innere und äußere Faktoren beeinflusst und ist keine konstante Größe. Der Gesamtenergiebedarf eines gesunden Menschen pro Tag setzt sich aus Ruheenergieumsatz (60 %), Energieumsatz bei Aktivität (25 %), nahrungsinduzierter, postprandialer (10 %) und adaptativer (5 %) (Thermoregulation, Stress, intensive geistige Arbeit) Thermogenese zusammen [60, 61]. Die körperliche Aktivität, die sich aus den beruflichen Tätigkeiten und dem Freizeitverhalten eines Menschen ergibt, ist messbar und wird als physical activity level (PAL) bezeichnet [60]. Der Gesamtenergieumsatz des Menschen kann von daher aus Ruheenergieumsatz und PAL [60] geschätzt werden.

Der Ruheenergieumsatz (REE) ist die Summe aller energieumsetzenden Prozesse des Organismus (Protein-, Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel, Ionentransportsysteme an Zellmembranen, Herzfunktion, Atmung sowie basale cerebrale Funktionen) im wachen, ruhenden, nüchternen Zustand in 24h. Der durchschnittliche Ruheenergieumsatz wird mit 1 kcal (=4,2kJ)/kg Körpergewicht/h angegeben.

Unter dem Leistungsumsatz versteht man jede weitere Energiemenge, die ein Mensch für die zusätzlich zum Ruheenergieumsatz vollbrachte Leistung benötigt. Faktoren, die den Leistungsumsatz beeinflussen, sind die Muskeltätigkeit (z.B. Bewegung, Sport), der Energiebedarf für das Wachstum bei Kindern und Jugendlichen, die Wärmeregulation bei verschiedenen Umgebungstemperaturen, die Verdauungstätigkeit oder die geistige Tätigkeit.

#### 3.2.3.1 Schätzformeln

Zunächst erfolgte eine Schätzung des erwarteten REE nach Harris und Benedict [62].

Hiernach gilt:

$$\text{REE [kcal/d]} = 655,096 + 1,850 * \text{KL} + \text{KG} - 4,676 * \text{A} \quad (\text{Frauen})$$

$$\text{REE [kcal/d]} = 66,473 + 5,003 * \text{KL} + 13,752 * \text{KG} - 6,755 * \text{A} \quad (\text{Männer})$$

KL: Körpergröße (cm); KG: Körpergewicht (kg); A: Alter (Jahre)

Neben der indirekten Kalorimetrie als Goldstandard zur Messung des REEs [63] wurde die seit kurzem verfügbare Methode des SensewearArmbandes zur Bestimmung des Energieumsatzes in Ruhe eingesetzt. Zeitgleich zur indirekten Kalorimetrie wurde der Ruheenergieumsatz mit dem SensewearArmband gemessen. Das gesamte Patienten- und Kontrollkollektiv unterzog sich der indirekten Kalorimetrie. Die parallele Messung beider Methoden konnte jedoch aus Kapazitätsgründen nur bei zehn Patienten und sechs gesunden Kontrollen durchgeführt werden.

Die analysierten Daten beider Verfahren wurden anschließend miteinander verglichen und sowohl die Daten der beiden Untersuchungen als auch die Berechnungen nach Harris and Benedict wurden miteinander korreliert.

### 3.2.3.2 Messung des Ruheenergieumsatzes (REE): indirekte Kalorimetrie

Unter standardisierten Bedingungen wurde die gängige „Ventilated hood“-Technik mit einem Deltatrac II (Datex-Ohmeda, Freiburg) angewendet.

Vor der Untersuchung hielten die Patienten eine Nahrungs- und Nikotinkarenz von 10-12h und ebenso lange Bettruhe ein. Bei den in der Regel ambulant betreuten Kontrollpersonen wurde äquivalent eine Ruhephase von mindestens dreißig Minuten neben der gleichen Nahrungs- und Nikotinkarenz vorausgesetzt.

Nach einer Aufwärmphase und Kalibrierung des Gerätes (fünfzehn Minuten) mit einer internen Eichvorrichtung und einem Kalibriergas (95 % O<sub>2</sub>, 5 % CO<sub>2</sub>), erfolgte die Bestimmung von O<sub>2</sub>-Verbrauch und CO<sub>2</sub>-Produktion während körperlicher Ruhe kontinuierlich in einminütigen Intervallen über einen Zeitraum von mindestens zwanzig Minuten.

Der Ruheenergieumsatz wurde aus dem Sauerstoffverbrauch (VO<sub>2</sub>) und der Kohlendioxidproduktion (VCO<sub>2</sub>) über die folgende Formel nach Takala errechnet [64]:

$$\text{REE}_{\text{Kalo}} [\text{kcal/d}] = 5,5 * \text{VO}_2 [\text{ml/min}] + 1,76 * \text{VCO}_2 [\text{ml/min}] - 1,99 \cdot \text{UN} [\text{g/24h}]$$

UN: Stickstoffausscheidung im 24-h Urin.

Allerdings ist die indirekte Kalorimetrie aufgrund eines besonderen Laborequipements nur in speziellen Zentren verfügbar und kann nicht zur Bestimmung des TEE unter Alltagsbedingungen oder über mehrere Tage genutzt werden [61, 65]. Messungen unter Feldbedingungen sind jedoch u. a. mit portablen Systemen möglich [65]. Weitere Limitierungen des Systems lassen sich in

selteneren Fällen auf klaustrophobische Zustände, Geruchsbildung oder Atemnot des Patienten zurückführen [65]. Die „doubly labelled water-method“ (DLW) ist der Goldstandard zur Messung des Gesamtenergieumsatzes im täglichen Leben [61, 65]. Nachteile dieser komplexen Methode sind die hohen Kosten und die eingeschränkte Beurteilung der körperlichen Aktivität [61, 65].

### 3.2.4 Energieumsatzmessung bei Aktivität

Das Sensewear PRO2-Armband der Firma Bodymedia® (smt-medical, Würzburg) ist ein multisensorischer Körpermonitor, der über dem Musculus Trizeps am rechten Oberarm direkt auf der Haut getragen wird. Mit speziell entwickelten Algorithmen wird der Energieumsatz ermittelt. Es erfolgte eine direkte Messung von Hauttemperatur, Wärmefluss, Leitfähigkeit der Haut und Bewegung, aus denen mittels der Software (INNERVIEW PRO) folgende Daten berechnet wurden:

- Gesamter Energieumsatz ( $TEE_{\text{Sensewear}}$ )
- Dauer der körperlichen Aktivität
- Energieumsatz unter Aktivität ( $AEE_{\text{Sensewear}}$ )
- Anzahl der Schritte
- Liegenddauer
- Schlafdauer
- Metabolische Einheit (MET)

Als Energieumsatz unter Aktivität galt der Energieumsatz bei einem MET-Wert von  $>2,5$ .

Die Patienten und Probanden trugen das SensewearArmband kontinuierlich über einen Zeitraum von 72h unter Alltagsbedingungen.

Eine Einordnung des tatsächlichen Energieumsatzes eines jeden Individuums in Bezug auf Richtwerte/Normwerte von Gesunden lässt sich mit der im SensewearArmband ermittelten Metabolischen Einheit erreichen. Grundsätzlich gilt:

$$1 \text{ MET} = 1 \text{ kcal/h/kgKG}$$

Normalgewichtige gesunde Personen haben einen Grundumsatz von 1 MET, d. h. sie verbrennen durchschnittlich 1 kcal pro Stunde pro Kilogramm Körpergewicht. Der MET-Wert ist daher ein Orientierungswert zur Beurteilung des Energiestoffwechsels.

### 3.2.5 Ernährungsanamnese

Die Energiezufuhr und die Zufuhr der drei Hauptnährstoffe Protein, Fett, Kohlenhydrate sowie der Alkoholkonsum wurden prospektiv aus den Angaben der Patienten und Kontrollpersonen ermittelt. Die Patienten und Kontrollpersonen führten ambulant unter ihren gewohnten Lebensbedingungen ein Ernährungsprotokoll über drei Tage. Sie sollten Art, Häufigkeit und Menge der konsumierten Nahrungsmittel und Getränke dokumentieren. Zur Einschätzung der Portionsgrößen wurden ihnen Mengenangaben (Esslöffel, Teelöffel etc.) angegeben bzw. im Gespräch eine Fotomappe mit verschiedenen Lebensmitteln (Beilagen, Gemüse, Salate) vorgelegt. Das zur Berechnung benutzte Programm EBIS (Ernährungsanamnese-, Beratungs- und Informations- System) wurde am Institut für Ernährungsphysiologie der Universität Hohenheim 1991 entwickelt und validiert [66] und basiert auf der Lebensmitteldatenbank Bundeslebensmittelschlüssel (BLS Version II.1) des Bundesgesundheitsamtes, welches 11050 Lebensmittel mit mehr als 150 Inhaltsstoffen enthält. Grundlage für die Berechnung der proportionalen Anteile der drei Hauptenergieträger an der Gesamtenergiezufuhr (Nährwertrelationen) waren folgende Energiegehalte:

Protein	4,32 kcal/g
Fett	9,46 kcal/g
Kohlenhydrate	4,18 kcal/g

### 3.2.6 Energiebilanz

Laut der Deutschen Gesellschaft für Ernährung ist für die Berechnung des Gesamtenergieumsatzes (TEE) das Ausmaß an körperlicher Aktivität entscheidend. International anerkannt ist es daher, den Energiebedarf als ein Mehrfaches des Grundumsatzes anzugeben, den sogenannten PAL-Wert (physical activity level) [60].

Je nach Grad der Muskelarbeit in Beruf und Freizeit kann der Wert zwischen 1,2 und 2,4 liegen, bei überwiegend sitzender Tätigkeit und geringer körperlicher Bewegung beträgt der PAL-Wert durchschnittlich 1,55-1,65 [60].

Die Gesamtenergiebilanz pro Tag wurde nach folgenden Formeln mit einem durchschnittlichen PAL-Wert von 1,3 berechnet:

$$\text{Energiebilanz}_{\text{Kalo}}/\text{d} = \text{Kalorienaufnahme}/\text{d} - 1,3 * \text{REE}_{\text{Kalo}}/\text{d}$$

$$\text{Energiebilanz}_{\text{Sensewear}}/\text{d} = \text{Kalorienaufnahme}/\text{d} - \text{TEE}_{\text{Sensewear}}/\text{d}$$

### 3.3 Laboruntersuchungen

#### 3.3.1 Basisparameter

Im Rahmen der routinemäßigen stationären Patientenversorgung erfolgte die Bestimmung des Blutbildes, des Differenzialblutbildes, der Elektrolyte (Natrium, Kalium), der Retentionswerte Kreatinin und Harnstoff, der Harnsäure, der Leberwerte ALT, AST,  $\gamma$ GT, AP und CHE sowie der Parameter Albumin, CrP, Cholesterin, Triglyceride, HDL und LDL. Zur Einschätzung des Diabetesrisikos wurde basales Insulin abgenommen. Um mögliche Störungen des Eisenstoffwechsels aufzudecken bzw. auszuschließen, erfolgten die Bestimmungen von Ferritin, Transferrin, Transferrinsättigung sowie die Ermittlung von Coeruloplasmin für den Kupferstoffwechsel. Die molekulargenetische Analyse des HFE-Genotyps zum weitestgehenden Ausschluss einer Hämochromatose wurde im Speziallabor von Herrn Prof. Dr. Schmidt (Charité - Universitätsmedizin Berlin) bestimmt.

Bei einigen Studienteilnehmern lag zum Zeitpunkt der Blutentnahme bereits eine Hepatitisserologie vor. In Zweifelsfällen erfolgte zur Abklärung und Differenzialdiagnose der Hepatitis die Abnahme der Parameter Hbs-AG, Anti-HBc, Anti-HBs und Anti-HCV.

Zum Ausschluss einer autoimmunen Genese wurden folgende Autoantikörper bestimmt: ANA, AMA-M2, LKM, SLA, SMA, pANCA und cANCA.

#### 3.3.2 Probengewinnung

Die Probengewinnung erfolgte ohne lange Stauzeiten morgens zwischen 7.00 und 8.00Uhr nüchtern, d.h. nach mindestens achtstündiger Nahrungskarenz. Die Routineparameter wurden im

Zentrallabor bzw. im Nuklearmedizinischen Institut der Charité-Universitätsmedizin Berlin bestimmt.

### 3.3.3 Oraler Glucosetoleranztest

Ein Großteil der Patienten sowie alle Kontrollpersonen waren übergewichtig, wodurch sich der Verdacht auf eine verminderte Glucosetoleranz bzw. einen Diabetes mellitus ergab und damit die Indikation für die Durchführung eines oralen Glucosetoleranztests vorlag.

Optimale Bedingungen für die Durchführung des oralen Glucosetoleranztests waren mindestens drei Tage lang übliche Essensgewohnheiten (mindestens 150-200 g Kohlenhydrate pro Tag) und das Fortsetzen der normalen körperlichen Aktivitäten, Bettlägerigkeit und übermäßige körperliche Aktivitäten wurden ausgeschlossen.

Nach venöser Blutentnahme zur Bestimmung der Nüchtern-glucose und des basalen Insulins sowie kapillärer Blutentnahme zum Zeitpunkt 0 min wurde eine Menge von 75 g Glucose gelöst in 125 ml stillem Wasser innerhalb von fünf Minuten im Beisein des Untersuchers getrunken. Es erfolgten zwei weitere venöse und kapilläre Blutentnahmen zu den Zeitpunkten 60 min und 120 min nach Einnahme der Glucose. Während der Testdurchführung galt eine möglichst stressfreie, inaktive Ruhestellung, Nahrungs- und Nikotinkarenz.

Die Bestimmung von Insulin erfolgte im Forschungslabor für Klinische Endokrinologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin. Aus der Fingerbeere wurde Kapillarblut zur Glucosebestimmung abgenommen und die Glucosekonzentration mit dem Gerät Ascensia®CONTOUR® von Bayer Health Care ermittelt. Diagnostische Richtwerte zur Feststellung eines Diabetes mellitus laut der American Diabetes Association [67]:

#### Normale Glucosewerte:

nach 0 min, nüchtern:	60-110 mg/dl
60 min nach Glucosegabe:	<200 mg/dl
120 min nach Glucosegabe:	<140 mg/dl

#### Gestörte Glucosetoleranz:

nach 0 min, nüchtern:	110-120 mg/dl
120 min nach Glucosegabe:	>140-199 mg/dl



**Diabetes mellitus:**

nach 0 min, nüchtern:	>120 mg/dl
120 min nach Glucosegabe:	>200 mg/dl

**3.3.4 Insulin**

Die Insulinsekretion aus den B-Zellen der Langerhans-Inseln des Pancreas erfährt im Tagesablauf erhebliche physiologische Schwankungen, die an Konzentrationsänderungen des Insulins zwischen 6-100 mU/l erkennbar werden. Gemeinsam mit der Bestimmung des C-Peptids hat die Bestimmung des Insulins eine Bedeutung in der Erkennung eines (Prä-)Diabetes sowie bei der Beurteilung der B-Zellfunktion.

*Normbereich:* basales Insulin: 6-25 mU/l

**3.3.5 HOMA-Index (Homeostasis Model Assessment)**

In der zeitlichen Abfolge der Ergebnisse beim Typ II Diabetes erscheint die Insulinresistenz lange bevor die Hyperglycämie manifest wird und noch vor einer Auffälligkeit im OGTT. Mit der Bestimmung des HOMA-Index ist ein zuverlässiger Nachweis der Insulinresistenz möglich [36].

HOMA-Index = basales Insulin (µmol/l) \* Nüchtern-glucose (mg/dl) / 405

Normbereich:	≤ 1
Hinweis auf Insulinresistenz:	≥ 2
Wahrscheinliche Insulinresistenz:	≥ 2,5
Durchschnittswert bei Diabetes mellitus:	≥ 5,0

### 3.4 Leberpunktion nach der Menghini-Technik

Die Leberbiopsie gilt als Goldstandard in der Diagnosesicherung von parenchymatösen Lebererkrankungen und wurde bei allen 25 Patienten der vorliegenden Arbeit in der Ultraschall-Abteilung der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte als Blindpunktion nach der Menghini-Technik durchgeführt [30, 68 - 70].

Für diese im klinischen Alltag etablierte, sonographisch gestützte Leberpunktion wurde das Einmalbesteck Hepafix® der Firma B. Braun Melsungen AG verwendet. Der Eingriff wurde am nüchternen (mindestens 8 h Nahrungs- und Nikotinkarenz) Patienten unter Ultraschallkontrolle und nach Hautdesinfektion und Lokalanästhesie verrichtet. Nach Stichinzision der Haut mit einem Stilet wurde mit einer Menghini-Nadel eine entsprechende Biopsie entnommen und in einen formalinegefüllten Behälter gefüllt. Alle Gewebeproben wurden im Institut für Pathologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin vom selben Untersucher beurteilt und hier nach dem in Tabelle 4 und 5 dargestellten NASH - Scoring System nach Brunt [46] von 1999 eingeteilt. Nach Aufbringen eines Verbandes wurden alle Patienten für vier Stunden auf die rechte Seite gelegt und für mindestens 24 Stunden stationär überwacht. Die Punktionsstelle wurde mit einem Sandsack komprimiert. Zum Ausschluss von Blutungskomplikationen erfolgten eine Hb-Kontrolle nach sechs Stunden sowie ein Ultraschall der Leber nach 24 Stunden.

Tabelle 4: Nichtalkoholische Steatohepatitis – Stadien nach Brunt 1999 [46]

Stadium	Histologische Kriterien
1	Läppchenzone 3, perivenuläre, perisinusoidale und perizelluläre Fibrose fokal oder ausgedehnt
2	wie Stadium 1 plus fokale oder ausgedehnte periportale Fibrose
3	Brückenbildende Fibrose, fokal oder ausgedehnt
4	Zirrhose

Tabelle 5: Nichtalkoholische Steatohepatitis - Grading nach Brunt 1999 [46]

<b>Grad</b>	<b>Semiquantitative Aktivität</b>	<b>Steatose</b>	<b>Ballonierung</b>	<b>Lobuläre Entzündung</b>	<b>Portale Entzündung</b>
1	Mild	<33 % der Hepatozyten, meist makrovesikulär	Selten, Zone 3	- selten - akut: mild, polymorphkernige Leukozyten - chronisch: mononukleäre Zellen	mild oder nicht vorhanden
2	Moderat	Jedes Grad, meist gemischt-tropfig	Mäßig in Läppchenzone 3	Polymorphkernige Leukozyten mit ballonierten Hepatozyten, perizelluläre Fibrose, milde chronische Entzündung	mild bis moderat
3	Schwer	>66 % der Hepatozyten, panazinär, gemischtvesikulär	deutlich in Läppchenzone 3	Polymorphkernige Leukozyten in Läppchenzone 3, ballonierte Hepatozyten, perisinusoidale Fibrose, deutliche gemischte akute und chronische Entzündung	moderat bis deutlich

## 3.5 Darmpermeabilität

### 3.5.1 Intestinaler Permeabilitätstest

Das Prinzip des Tests besteht darin, die renale Ausscheidungsrate von oral applizierten, aber nur in geringen Maßen resorbier- und metabolisierbaren Testsubstanzen als Maß der Permeabilität der Darmmukosa zu bestimmen. Eine erhöhte gastroduodenale und/oder –intestinale Permeabilität zeigt sich dann in der Höhe der Ausscheidung der jeweiligen Testsubstanz im Urin.

In beiden Gruppen wurde der Urin fraktioniert gesammelt und die 5h-Werte beider Kollektive verglichen.

Vor Testbeginn musste eine 48-stündige Alkoholkarenz eingehalten werden, da die Permeabilität der Dünndarmmucosa durch Alkohol verändert werden kann. Rauchen war während des gesamten Testes nicht gestattet. 24 Stunden vor Durchführung durften außerdem keine Medikamente (z.B. NSAID, ASS, Diuretika, Abführmittel) eingenommen werden. Die abendliche Dosis unverzichtbarer Medikamente vor dem Test wurde bis nach dem Test verschoben.

Die letzte Mahlzeit vor Testbeginn sollte spätestens 18Uhr des Vorabends erfolgen. Nahrungsaufnahme, Zähneputzen und Kaugummikauen waren während der Testzeit nicht erlaubt.

Der gesammelte Urin sollte kühl gelagert werden. Um den gesammelten Urin vor einer bakteriellen Kontamination zu schützen, wurde den beiden Urinsammelgefäßen jeweils Natriumacid ( $\text{NaN}_3$ ;  $M=65,01 \text{ g/mol}$ ) zugesetzt. Laut Gefahrstoffverordnung wird Natriumacid der Gruppe T+ bzw. der Klasse 2 zugeordnet, weshalb die Behälter mit einem Warnhinweis versehen wurden. Bei sachgemäßer Handhabung konnte ein Chemikalienkontakt ausgeschlossen werden.

Nach Abgabe des Morgenurins in einen 500 ml Sammelbehälter tranken sowohl die gesunden Kontrollpersonen als auch die NASH-Patienten eine in der Apotheke des Universitätsklinikums der Charité - Universitätsmedizin Berlin hergestellte Trinklösung aus 5 g Mannitol, 10 g Lactulose und 20 g Saccharose ad 100 ml Wasser. Den ab diesem Zeitpunkt angefallenen Urin sammelten alle Studienteilnehmer sukzessive in einen 2000 ml-Behälter. Für die Patientengruppe war der Test nach fünf Stunden beendet.

Der Morgen- und Sammelurin war nach Aufbereitung für die Analyse der Zuckermoleküle mit der High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)-Methode (Dionex, Idstein, Deutschland), bereit [71, 72]. Die Trennung der einzelnen Zucker an der Trennsäule erfolgte durch Ionenaustausch der anionisch vorliegenden Zuckermoleküle und durch Adsorptionsvorgänge am polymeren Grundgerüst des Ionenaustauschers.

Die Zuckerkonzentrationen der Harnprobe wurden mit Hilfe von Standardkurven berechnet.

Von den im Sammelurin gemessenen Zuckermengen wurde die endogene Mannitolproduktion (gemessen im Morgenurin) subtrahiert. Anschließend gab man die im Sammelurin gemessenen Zuckerkonzentrationen als prozentualen Anteil der oral aufgenommenen Zuckermenge an. Die ermittelten Saccharosewerte repräsentieren ein Maß für die gastroduodenale Durchlässigkeit der Dünndarmschleimhaut.

Als intestinalen Permeabilitätsindex bezeichnet man den Quotienten aus Lactulose und Mannitol.

Die verwendeten Normwerte lauten:

- 5h-Saccharoseausscheidung  $\leq 0,23 \%$
- 5h-Mannitolausscheidung  $\leq 27,80 \%$
- 5h-Lactuloseausscheidung  $\leq 0,44 \%$

Intestinaler Permeabilitätsindex (% Lactulose/ % Mannitol):  $\leq 0,0300$

### 3.5.2 Sonographie des Darmes

Zur Beurteilung der Darmwanddicke und um damit mögliche Aussagen über entzündliche Veränderungen des Darmes zu treffen, wurde ein Ultraschall des Darmes durchgeführt. Vorherige Studien [45] zeigen, dass die transcutane abdominale sonographische Bestimmung der Darmwanddicke ein valides Verfahren zur Beurteilung funktioneller Störungen, wie eine erhöhte Darmpermeabilität ist.

Alle Patienten und die Mehrzahl der Kontrollpersonen wurden vom gleichen Untersucher mit dem ATL-Gerät von Philips (HDI 5000) unter Verwendung eines hochauflösenden Linearschallkopfes (L5-10) untersucht. Die Sonographie erfolgte in Rückenlage des nüchternen Patienten. Dabei wurden drei verschiedene Ebenen dargestellt. Es erfolgte die Ausmessung der Darmwanddicken sowie der Darmwanddurchmesser.

Die Auswertung erfolgte unter Berücksichtigung folgender Normwerte für die Darmwanddicke:

- Duodenum: 3-4 mm
- Jejunum und Ileum: 3-4 mm
- Kolon: 2-3 mm
- Pathologische Darmwand (Kokarde):  $>4$  mm

Die Wanddicke des Darmes unterliegt schon physiologisch großen Schwankungen, wodurch auch die große Schwankungsbreite der Normwerte zu erklären ist. Dünndarm und Kolon 0,5 – 4 mm.

### **3.5.3 Bestimmung von Calprotectin**

Calprotectin im Stuhl ist ein direktes Maß für die Chemotaxis getriggerte Einwanderung der Granulozyten ins Darmlumen, und damit ein semiquantitativer Marker eines zellulären entzündlichen Prozesses. Das Glycoprotein Calprotectin weist daher keine Spezifität bezüglich der verursachenden Grunderkrankung auf, sondern zeigt generell das Vorhandensein und das Ausmaß einer Entzündung an. Um eine Beteiligung von entzündlichen Prozessen im Intestinaltrakt im Zusammenhang mit einer Steatose zu betrachten, wurde bei den Patienten der vorliegenden Studie eine Calprotectinbestimmung aus einer nativen Stuhlprobe vorgenommen. Calprotectin ist im Stuhl stabil und in der nativen, ungekühlten und unbehandelten Stuhlprobe einige Tage lang praktisch unverändert nachweisbar. Bei längerer Lagerung erfolgte eine Kühlung oder das Einfrieren bei -20 °C. Es gaben 19 Patienten der vorliegenden Studie eine native Stuhlprobe in dafür vorgesehenen Stuhlröhrchen während ihres stationären Aufenthaltes ab, aus denen anschließend im Stoffwechsellabor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin unter Leitung von Frau Dr. S. Bühner Calprotectin bestimmt wurde. Die Laboranalyse erfolgte in einem durch geeignete Standards kalibrierten, quantitativen ELISA-Test (Calprotectin-ELISA-Kit (MRP 8/14) (Stuhl), Artikelnr. K6930,) der Firma Immundiagnostik AG, Bensheim, Deutschland. Als Nachweisgrenze wurde in der Arbeitsanleitung des Kits 2,915 ng/ml angegeben.

### 3.6 Statistische Datenanalyse

Die Datenanalyse wurde mit dem computergestützten Statistikprogramm SPSS (Version 13.0 und 15.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) und PASW (Version 18.0, SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA) vorgenommen.

Falls nicht anderweitig ausgewiesen, wurden für alle erhobenen Messwerte Mittelwerte und Standardabweichung ( $\bar{x} \pm SD$ ) angegeben. Für ausgewählte Parameter wurden Minimalwert und Maximalwert angegeben, wobei diese in der vorliegenden Arbeit jeweils in runden Klammern (...) angegeben wurden. Für die jeweilige Gruppe bezeichnet n die Fallzahl.

Der statistische Vergleich der gematchten Paare (NASH-Patienten vs. gesunde Kontrollpersonen) bzw. deren einzelne Merkmale zur Untersuchung signifikanter Unterschiede erfolgte durch den Wilcoxon-Test (nichtparametrischer Test) für verbundene Stichproben.

Ferner wurde der Mann-Whitney-Test für statistische Untersuchungen wie Alter, BMI und weitere Basisparameter zwischen allen 32 rekrutierten Patienten und den 25 Kontrollpersonen angewendet (Test für nicht verbundenen Stichproben). Zur statistischen Analyse von Häufigkeiten wurde der Chi-Quadrat-Test angewendet.

Die Signifikanz aller errechneten Unterschiede wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < 0,05$  angenommen und der genaue p-Wert dann im Text wiedergegeben.

Zur Beschreibung eines vorliegenden (linearen) Zusammenhanges sowie zur Quantifizierung der Stärke des Zusammenhanges zwischen zwei oder mehreren Merkmalen diente in der vorliegenden Studie die Korrelationsanalyse unter Angabe des Korrelationskoeffizienten r nach Pearson (für quantitative, normalverteilte, metrische Variablen). Der Wertebereich des Korrelationskoeffizienten reicht von -1 (perfekter negativer Zusammenhang) bis +1 (perfekter positiver Zusammenhang). Kein linearer Zusammenhang besteht, wenn der Wert Null beträgt.

Es wurde u. a. untersucht, ob die Daten zur Bestimmung des Grundumsatzes mittels verschiedener Methoden (indirekte Kalorimetrie vs. SensewearArmband) miteinander korrelieren. Für den Vergleich zweier Messmethoden (indirekte Kalorimetrie vs. SensewearArmband) wurde das Bland-Altman-Diagramm [73] als graphische Darstellungsmethode angewandt.

Weitere graphische Darstellungen erfolgten in Form von Balkendiagrammen und Boxplots. Bei den Boxplots bezeichnet n die Fallzahl für die jeweilige Gruppe. Das graue Kästchen ist die Interquartildistanz FS, d.h. der Bereich zwischen 25. und 75. Perzentile der Werte. Der schwarze Balken kennzeichnet den Median. Die vom Kasten abgehenden Linien verlaufen zu den extremen Werten innerhalb der „inneren Eingrenzung“, d.h. der Bereich zwischen 5.-95. Perzentile

(entsprechend innerhalb  $1,5 \times FS$ ). Ausreißer befinden sich außerhalb dieser Werte und werden als \* oder o dargestellt.

Weiterhin erfolgten Korrelationsanalysen zur Aussage über Zusammenhänge zwischen Körperzusammensetzung und Energiezufuhr und Energieumsatz.



## 4 Ergebnisse

In die vorliegende Studie wurden 32 Patienten mit unklar erhöhten Leberwerten seit mindestens sechs Monaten mit der Verdachtsdiagnose nichtalkoholische Steatohepatitis aufgenommen. Nach Leberpunktion mit Entnahme einer Gewebeprobe und histologischer Interpretation der Befunde nach Brunt [46, 70] konnten die Patienten wie in Abbildung 2 ersichtlich in folgende Gruppen eingeteilt werden und mit den 25 gesunden Kontrollpersonen verglichen werden. Bei sieben Patienten wurde aufgrund von Kontraindikationen oder fehlendem Einverständnis keine Leberpunktion durchgeführt. Zehn Patienten wurden nach der Punktion ausgeschlossen, da bei ihnen zwar eine Leberparenchymverfettung, jedoch keine histologischen Kriterien nach Brunt [46, 70] nachgewiesen wurden. Von 15 Patienten mit histologisch nachgewiesener nichtalkoholischer Steatohepatitis wurden wegen der strengen Matchingkriterien letztendlich nur 12 Patienten mit histologisch gesicherter NASH mit gesunden Kontrollpersonen alters-, geschlechts- und BMI-gematcht. Im Mittelpunkt der Datenanalyse für die vorliegende Arbeit stand diese Gruppe von 12 Patienten mit histologisch gesicherter NASH und deren alters-, geschlechts- und BMI-gematchte Kontrollpersonen.

### 4.1 Screening

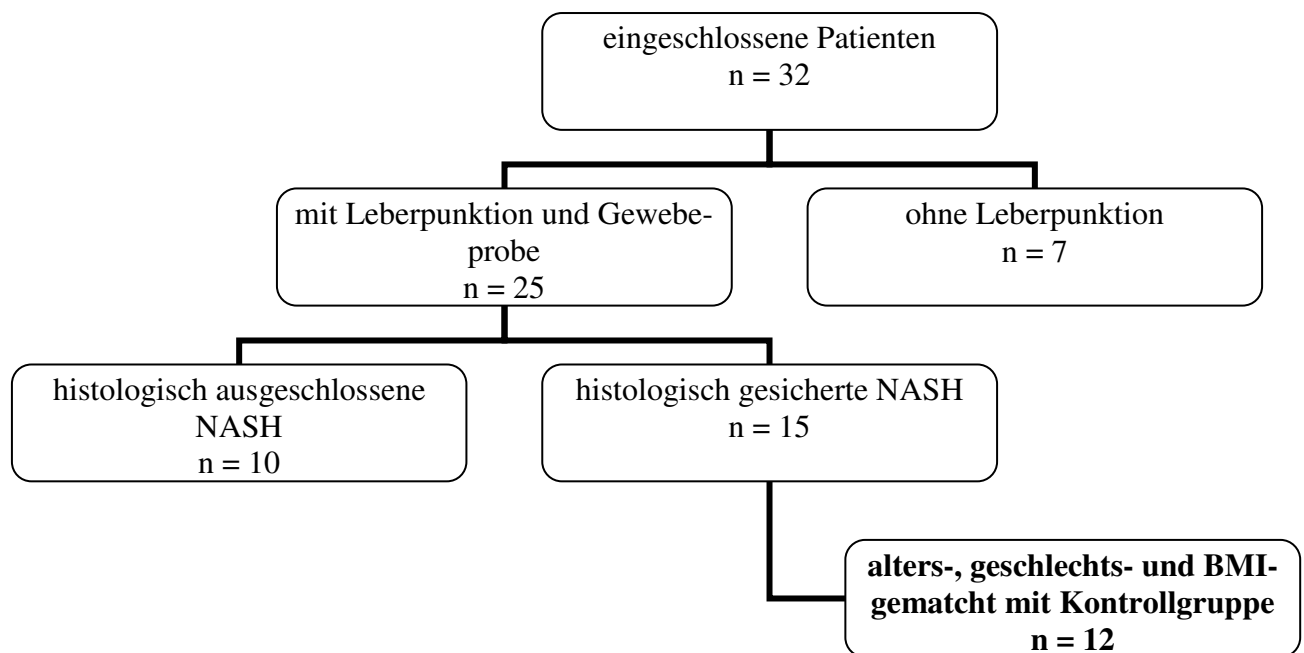


Abbildung 2: Anzahl der gescreenten Patienten

## 4.2 Charakterisierung von NASH-Patienten und gesunden Kontrollpersonen

In der Tabelle 6 sind die Basisparameter des kompletten Kollektivs der vorliegenden Studie wiedergegeben. Die Patienten (n=32) in der vorliegenden Arbeit waren mit einem Mittelwert von  $51,5 \pm 13,1$  Jahren (25,5-75,6) älter, aber ohne signifikanten Unterschied, als die rekrutierten gesunden Kontrollpersonen (n=25) mit einem Mittelwert von  $47,6 \pm 8,3$  (35,3-66,3) Jahren. Nach den Richtlinien der WHO [49] lag der mittlere Body-Mass-Index in der Kontrollgruppe deutlich im Bereich der Adipositas (52 % der Kontrollen), Übergewicht hatten 48 % der Kontrollpersonen. Dahingegen bewegte sich der mittlere BMI der Patientengruppe noch an der oberen Grenze des Übergewichtes (59 % der Patienten), adipös waren 41 % der Patienten. Die Patienten mit einer nichtalkoholischen Steatohepatitis (n=15) waren **signifikant älter** ( $p=0,019$ ) und wiesen einen niedrigeren BMI (ohne Signifikanz) als die Probanden auf.

Tabelle 6: Basisparameter von Patienten mit und ohne NASH sowie gesunden Kontrollpersonen als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Gesamtheit der Patienten	Patienten mit NASH	Patienten ohne NASH	Patienten ohne Leberpunktion	Kontrollen
<b>n</b>	32	15	10	7	25
<b>Frauen</b>	19	10	7	2	18
<b>Männer</b>	13	5	3	5	7
<b>Alter [Jahre]</b>	$51,5 \pm 13,1$ (25,5–75,6)	$55,9 \pm 10,6^*$ (39,1–73,5)	$49,8 \pm 14,0$ (25,5–66,9)	$44,5 \pm 14,4$ (32,9–75,6)	$47,6 \pm 8,3$ (35,3–66,3)
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	$29,4 \pm 5,3$ (22,0–51,0)	$28,8 \pm 4,1$ (22,0–35,5)	$28,1 \pm 3,8$ (22,0–33,0)	$32,9 \pm 8,5$ (26,0–51,3)	$31,1 \pm 4,9$ (25,4–42,2)
<b>Waist-to-hip-Ratio</b>	$0,93 \pm 0,09$ (0,58-1,07)	$0,94 \pm 0,07$ (0,85-1,05)	$0,89 \pm 0,12$ (0,58-1,03)	$0,97 \pm 0,06$ (0,91-1,07)	$0,93 \pm 0,07$ (0,8-1,06)

\* $p < 0,05$  im Vergleich zur Kontrollgruppe

Um vergleichende Untersuchungen zwischen Gesunden und Kranken vornehmen zu können und bestimmte Fehlerquellen damit zu vermeiden, erfolgte die Zusammenstellung der NASH-

Patienten mit einer alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe, die im Zentrum der Arbeit lag. Die Basisparameter des gematchten Kollektivs sind in Tabelle 7 wiedergegeben. Erwartungsgemäß waren hier keine signifikanten Unterschiede zu finden.

Bei einer umfassenden körperlichen Untersuchung fiel bei keinem der Patienten ein ikterisches Hautkolorit oder ein Sklerenikterus auf. Es waren weder Leberhautzeichen noch ein Aszites zu sehen.

Tabelle 7: Basisparameter von NASH-Patienten und alters-, geschlechts- und BMI-gematchter Kontrollgruppe als Mittelwert±SD (Range)

Messgröße	Patienten mit NASH	Kontrollen
<b>n</b>	12	12
<b>Frauen</b>	7	7
<b>Männer</b>	5	5
<b>Alter</b> [Jahre]	53,0±9,8 (39,1–69,0)	51,0±8,9 (37,7–66,3)
<b>BMI</b> [kg/m <sup>2</sup> ]	28,1±3,2 (24,5–35,0)	28,7 ±2,4 (25,4–32,8)
<b>Waist-to-hip-Ratio</b>	0,94±0,1 (0,85-1,05)	0,95±0,1 (0,84-1,06)

### 4.3 Anamnestische Daten und Metabolisches Syndrom

Die Risikofaktoren für das Metabolische Syndrom bzw. die Entstehung einer Fettleber sind in Tabelle 8 angegeben. Eine Adipositas war bei 3 (25 %) Patienten und 4 (33,3 %) Kontrollen, Übergewicht bei 7 (58 %) Patienten und 8 (66,7 %) Kontrollen und ein Normalgewicht bei 2 (16,6 %) Patienten zu sehen. Weitere Risikofaktoren wie eine Dyslipoproteinämie mit erhöhten Triglyceriden (>180 mg/dl) fielen bei 6 Patienten und 5 (41,7 %) Kontrollpersonen auf, ein erhöhtes Gesamtcholesterin (>200 mg/dl) wurde bei 5 (41,7 %) Patienten und 9 (75 %) Kontrollen gemessen. HDL-Cholesterin (w < 45 mg/dl, m < 35 mg/dl) war nicht erniedrigt.

Ein weiterer kausaler Faktor für das Metabolische Syndrom und eine NASH ist ein Nüchternblutzucker von  $\geq 100$  mg/dl oder ein bereits vorhandener Diabetes mellitus Typ II. In der vorlie-

genden Arbeit war bei einem der 12 NASH-Patienten bereits ein Diabetes mellitus II bekannt, bei 2 Patienten (16,7 %) wurde ein DM Typ II neu diagnostiziert. In der Kontrollgruppe war bei einer der Personen ein erhöhter Nüchternblutzucker aufgefallen. Bei 5 (41,7 %) der 12 Patienten und 2 (16,6 %) der 12 Probanden fiel ein arterieller Hypertonus auf.

NASH-induzierende Medikamente wurden weder von Patienten noch von gesunden Kontrollpersonen eingenommen. Über eine Cholelithiasis bzw. einen Z.n. Cholezystektomie berichteten 2 (16,6 %) der Patienten und eine Kontrollperson. Eine Hyperurikämie lag bei der Hälfte der Patienten vor.

Tabelle 8: Risikofaktoren für das Metabolische Syndrom bzw. die Entstehung einer Fettleber der NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe

Risikofaktoren	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>	12	12
<b>BMI</b>		
Adipositas BMI $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>	3	4
Übergewicht BMI 25-29,9 kg/m <sup>2</sup>	7	8
Normalgewicht BMI 18,5-24,9 kg/m <sup>2</sup>	2	0
<b>Abdominelle Fettverteilung</b>		
WC (m $\geq 102$ cm, w $\geq 88$ cm)	11	12
<b>Nüchternblutzucker <math>\geq 100</math> mg/dl oder Diabetes mellitus II</b>		
Bekannt	1 (DM II)	0
neu diagnostiziert	2 (DM II)	1 (Nüchternblutzucker $\geq 100$ mg/dl)
<b>Dyslipoproteinämie</b>		
Hypertriglyceridämie	6	5
Hypercholesterinämie	5	9
<b>Arterielle Hypertonie</b>	5	2

DM: Diabetes mellitus

Die Familienanamnese (Tabelle 9) für einen Diabetes mellitus Typ II war in beiden Gruppen positiv mit 5 Fällen (41,7 %) bei den Patienten und 8 Fällen (66,7 %) bei den Kontrollen. Eine Adipositas in der Familie gaben 5 (41,7 %) der Kontrollen an. In der Patientengruppe war die Familienanamnese hierfür leer. Eine Dyslipoproteinämie in der Familie bestand zu 8,3 % (1 Patient) und zu 25 % (3 Kontrollen). Besonders interessant bei der Erhebung der Familienanamnese war, dass in beiden Kollektiven jeweils eine Person eine bekannte Steatosis hepatis bei einem Familienmitglied angab.

Tabelle 9: Familienanamnese bezüglich metabolischer Risikofaktoren der NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe

	<b>NASH-Patienten</b>	<b>Kontrollen</b>
<b>n</b>	12	12
Übergewicht/Adipositas	0	5
Diabetes mellitus II	5	8
Dyslipoproteinämie	1	3
Steatosis hepatis	1	1

## **4.4 Ernährungszustand und Körperzusammensetzung**

### **4.4.1 Anthropometrie**

In Tabelle 10 sind die anthropometrischen Daten der 12 Patienten und der 12 alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollen wiedergegeben, die bis auf die Werte der Bizeps-hautfalte ( $p = 0,041$ ) keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen aufwiesen. Der mittlere Wert der waist-to-hip-ratio der Patienten ( $0,94 \pm 0,1$ ; 5m:  $0,99 \pm 0,1$ ; 7w:  $0,90 \pm 0$ ) glich dem der Kontrollen ( $0,95 \pm 0,1$ ; 5m:  $1,0 \pm 0$ ; 7w:  $0,90 \pm 0$ ). Die einzelnen Werte der waist-to-hip-ratio und des Taillenumfangs aller Patienten und aller Probanden bewegten sich bis auf die Ausnahme der Werte eines männlichen NASH-Patienten und einer weiblichen Kontrollperson im pathologischen Bereich und gelten damit als Risiko für die Entwicklung einer KHK oder eines Metabolischen Syndroms mit NASH.

Tabelle 10: Anthropometrische Werte von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit/Formel	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		12	12
<b>Waist-to-hip-ratio</b>		0,94 $\pm$ 0,1 (0,85-1,05)	0,95 $\pm$ 0,1 (0,84-1,06)
<b>Hüftumfang</b>	cm	104,0 $\pm$ 8,1 (92,0-123,0)	106,2 $\pm$ 7,4 (97,0-118,0)
<b>Tailenumfang</b>	cm	97,1 $\pm$ 7,1 (84,5-106,5)	100,5 $\pm$ 9,1 (83,5-115,5)
<b>Oberarmumfang</b>	cm	32,1 $\pm$ 3,2 (26,0-35,5)	32,1 $\pm$ 2,1 (29,0-35,0)
<b>Trizepsfalte</b>	mm	23,9 $\pm$ 8,5 (6,2-32,5)	20,4 $\pm$ 7,9 (8,3-31,1)
<b>Bizepsfalte</b>	mm	<b>20,6<math>\pm</math>8,6*</b> (6,5-34,3)	14,2 $\pm$ 5,3 (8,3-23,7)
<b>Subscapularfalte</b>	mm	29,1 $\pm$ 7,3 (15,3-37,7)	27,2 $\pm$ 7,1 (15,1-40,0)
<b>Suprailiacalfalte</b>	mm	24,4 $\pm$ 6,3 (13,3-34,0)	28,0 $\pm$ 7,8 (16,5-43,8)
<b>Armmuskelumfang</b>	cm	24,5 $\pm$ 1,9 (20,4-27,6)	25,6 $\pm$ 3,9 (20,7-32,4)
<b>Armmuskelfläche</b>	cm <sup>2</sup>	48,1 $\pm$ 7,1 (33,0-60,1)	53,3 $\pm$ 16,0 (34,0-83,5)
<b>Arm fettfläche</b>	cm <sup>2</sup>	34,4 $\pm$ 13,2 (7,8-47,7)	30,8 $\pm$ 11,3 (13,9-46,1)
<b>Fettmasse [53]</b>	kg	30,3 $\pm$ 7,1 (18,1-42,7)	30,3 $\pm$ 4,9 (24,2-37,2)
<b>Fettfreie Masse [53]</b>	kg	49,8 $\pm$ 10,5 (38,4-70,8)	53,2 $\pm$ 10,3 (39,7-70,0)

\* p < 0,05

Weder die Armfettfläche (AFA) als Maß für die Fettmasse noch die nach Durnin und Womersleys Algorithmus berechnete Fettmasse waren zwischen beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Ebenfalls keine signifikanten Auffälligkeiten zeigte die Armmuskelfläche (AMA).

Die Ergebnisse der AMA und AFA wurden mit den Referenzwerten nach Frisancho [56] verglichen und die Verteilung in der Patienten- und Kontrollgruppe in Abbildung 3 dargestellt. Dabei wurde der Bereich zwischen 10. und 90. Perzentile als Spanne für Gesunde zum Vergleich herangezogen.

Bei der Armmuskelfläche wiesen zwei (16,7 %) männliche NASH-Patienten Werte unterhalb der 10. Perzentile und damit Hinweise auf eine verminderte Muskelmasse auf. Die übrigen NASH-Patienten (83,3 %) sowie alle gesunden Kontrollpersonen zeigten nahezu unauffällige Werte.

Drei (25 %) der NASH-Patienten lagen mit der Armfettfläche über der 95. Perzentile und ein (8,3 %) Patient unter der 10. Perzentile. Die Kontrollpersonen lagen bis auf eine Person im Normbereich.

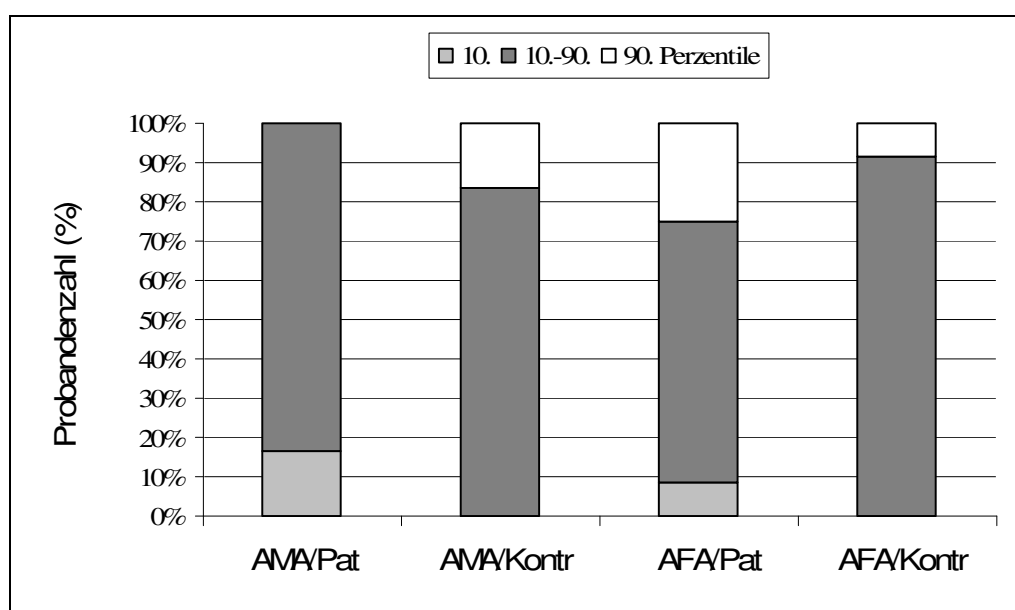


Abbildung 3: Armmuskelfläche (AMA) und Armfettfläche (AFA) von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe im Vergleich mit Perzentilen nach Frisancho [57]

#### 4.4.2 Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA)

Es fielen in der BIA unter den gemessenen Rohwerten (Tabelle 11) Resistanz, Reaktanz und Phasenwinkel keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen auf.

Tabelle 11: BIA-Rohwerte bei 5 kHz, 50 kHz und 100 kHz von NASH-Patienten und der alters- geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert±SD (Range)

Messgröße	Einheit	NASH-Patienten	Kontrollen
n		12	12
<b>Frequenz 5 kHz</b>			
<b>Resistenz R</b>	Ohm	615,8±102,9 (498,0-853,0)	571,0±62,0 (489,0-652,0)
<b>Reaktanz Xc</b>	Ohm	35,7±7,3 (20,0-46,0)	34,9±9,3 (23,0-58,0)
<b>Phasenwinkel</b>	grad	3,3±0,6 (2,3-4,4)	3,5±0,8 (2,5-5,2)
<b>Frequenz 50 kHz</b>			
<b>Resistenz R</b>	Ohm	526,3±96,8 (405,0-741,0)	492,2±58,8 (420,0-570,0)
<b>Reaktanz Xc</b>	Ohm	59,3±9,4 (44,0-78,0)	55,2±7,4 (45,0-69,0)
<b>Phasenwinkel</b>	grad	6,5±0,8 (5,8-8,1)	6,4±0,7 (5,6-7,7)
<b>Frequenz 100 kHz</b>			
<b>Resistenz R</b>	Ohm	497,3±93,5 (382,0-704,0)	464,5±56,8 (393,0-542,0)
<b>Reaktanz Xc</b>	Ohm	59,5±10,2 (33,0-67,0)	46,2±6,7 (36,0-59,0)
<b>Phasenwinkel</b>	grad	6,1±0,8 (5,0-6,9)	5,9±0,9 (4,9-6,2)



Ebenfalls keine signifikanten Unterschiede fanden sich zwischen den absoluten und relativen Werten der einzelnen Körperkompartimente, berechnet aus Reaktanz, Resistanz und Phasenwinkel (Tabelle 12).

Tabelle 12: Körperkompartimente von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		12	12
<b>Ganzkörperwasser</b>	kg	39,7 $\pm$ 10,9 (24,3-58,5)	42,7 $\pm$ 10,0 (31,4-57,0)
<b>Ganzkörperwasser</b>	% Körpergewicht	49,2 $\pm$ 9,6 (39,3-66,3)	50,8 $\pm$ 7,8 (38,8-62,3)
<b>Fettfreie Masse</b>	kg	54,2 $\pm$ 15,0 (33,3-80,0)	58,3 $\pm$ 13,6 (43,0-77,9)
<b>Fettfreie Masse</b>	% Körpergewicht	67,2 $\pm$ 13,1 (53,6-90,6)	69,4 $\pm$ 10,7 (53,0-85,1)
<b>Körperzellmasse</b>	kg	29,5 $\pm$ 9,2 (17,3-44,7)	31,5 $\pm$ 8,1 (21,9-44,0)
<b>Körperzellmasse</b>	% Körpergewicht	36,5 $\pm$ 9,0 (27,9-54,6)	37,4 $\pm$ 6,7 (27,7-49,1)
<b>Fettmasse</b>	kg	25,9 $\pm$ 10,3 (7,7-42,8)	25,1 $\pm$ 8,4 (12,9-39,5)
<b>Fettmasse</b>	% Körpergewicht	32,8 $\pm$ 13,1 (9,4-46,4)	30,6 $\pm$ 10,7 (14,9-47,0)
<b>Extrazellulärmasse</b>	kg	24,8 $\pm$ 6,2 (16,0-35,8)	26,8 $\pm$ 6,0 (19,3-36,0)
<b>Extrazellulärmasse</b>	% Körpergewicht	30,7 $\pm$ 4,8 (25,3-40,1)	32,0 $\pm$ 4,8 (23,0-40,0)

### 4.4.3 Duale Röntgen-Absorptionsmessung (DXA)

Die Bestimmung der Muskel-, der Knochen- und der Fettmasse mittels DXA-Verfahren wurde bei jeweils 8 Personen der beiden gemachten Gruppen durchgeführt. Insgesamt wurden, wie in Tabelle 13 dargestellt ist, bei keinem der bestimmten Parameter signifikante Abweichungen erreicht.

Tabelle 13: DXA-Messung von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gemachten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit	Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		8	8
<b>Gewebe (Fett)</b>	%	36,7 $\pm$ 12,4 (15,1-49,1)	38,2 $\pm$ 8,8 (27,1-52,9)
<b>Centile</b>		79,8 $\pm$ 29,1 (10,0-100,0)	78,9 $\pm$ 23,7 (30,0-99,0)
<b>T.masse</b>	kg	79,1 $\pm$ 21,9 (30,5-98,8)	82,2 $\pm$ 11,2 (67,8-102,1)
<b>Fettmasse</b>	kg	29,8 $\pm$ 10,3 (12,3-43,1)	30,1 $\pm$ 6,9 (22,8-40,1)
<b>Magermasse</b>	kg	52,0 $\pm$ 13,0 (40,0-69,3)	49,3 $\pm$ 11,1 (35,7-64,2)

## 4.5 Energieumsatz

### 4.5.1 Ruheenergieumsatz

Die Schätzung des Grundumsatzes nach der Formel von Harris und Benedict [62] zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen dem REE<sub>HB</sub> der Patienten (1639 $\pm$ 298 kcal/d) und dem REE<sub>HB</sub> der Kontrollen (1613 $\pm$ 290 kcal/d). Der aus dem Sauerstoffverbrauch und der Kohlendioxidproduktion gemessene und nach der Formel von Takala bestimmte REE<sub>Kalo</sub> [64] wies ebenfalls ähnliche Werte in beiden Gruppen (NASH-Patienten: 1458 $\pm$ 234 kcal/d; Kontrollen:

1547±288 kcal/d; n. s.) auf. Mit zunehmendem Alter nahm der Grundumsatz erwartungsgemäß ab, eine Signifikanz trat nur im Patientenkollektiv auf, wie sich in der beobachteten negativen Korrelation widerspiegelte ( $REE_{HB} -0,621$  ( $p= 0,031$ ),  $REE_{Kalo} -0,652$  ( $p=0,022$ )). Ausgehend von einem respiratorischen Quotienten RQ von ca. 0,85 für gesunde, nicht hungernde und sich ausgewogen ernährende Menschen, deutete der RQ sowohl bei den Patienten (RQ 0,84±0,03) als auch bei den Kontrollen (0,84±0,07) auf physiologische Werte und damit auf eine normale Substratoxidation hin. In der Patientengruppe fanden sich höhere Substratoxidationsraten für Kohlenhydrate (SOR KH 39,18±14,7%) und Fette (SOR Fett 45,7±14,7 %) und eine niedrigere Oxidationsrate für Eiweiße (SOR Protein 15,3%±3,1 %) als in der Kontrollgruppe (SOR KH 35,6±26,8%; SOR Fett 44,0±28,5%; SOR Protein 20,4±6,4%). Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Beim Vergleich zwischen dem mittels indirekter Kalorimetrie gemessenen REE (1457,91±234,19) und dem nach Harris und Benedict [62] berechneten REE (1639,23±297,61) wurde im Patientenkollektiv **eine Signifikanz ( $p=0,002$ )** erreicht, in der Kontrollgruppe hingegen nicht.

Insgesamt waren acht (4m, 4w) Patienten und sechs (3m, 3w) Kontrollen normometabol ( $-15 \% REE_{HB} < REE_{Kalo} < +15 \% REE_{HB}$ ). Einen hypometabolen Ruheenergieumsatz ( $REE_{Kalo} < -15 \% REE_{HB}$ ) fand man bei vier (1m, 3w) Patienten und drei (1m, 2w) Kontrollpersonen. Zwei weibliche und eine männliche Kontrollperson zeigten und einen hypermetabolen ( $REE_{Kalo} > +15 \% REE_{HB}$ ) Ruheenergieumsatz.

#### **4.5.2 Messungen des Energieumsatzes mit dem SensewearArmband**

In der Tabelle 14 lassen sich vergleichbare Werte im Gesamtenergieumsatz (TEE) und im Energieumsatz bei Aktivität (AEE) sowohl als Absolutwerte als auch bezogen auf das Körpergewicht bei NASH-Patienten und Kontrollen erkennen. Insgesamt lagen die Patienten mit ihrem täglichen Energieumsatz ohne signifikante Unterschiede etwas über dem der Kontrollen. Ähnliche Tendenzen zeigten sich im Energieumsatz bezogen auf das Körpergewicht in beiden Gruppen. Die NASH-Patienten waren im Durchschnitt täglich ca. dreißig Minuten länger körperlich aktiv als die gesunden Probanden, signifikante Abweichungen lagen jedoch nicht vor.

Der Energieumsatz in Ruhe (REE) und insgesamt (TEE) verhielt sich proportional zur Körperzellmasse, bei den Patienten etwas eindeutiger als bei den Kontrollen. Dies spiegelt sich in den folgenden positiven Korrelationen wider: NASH-Patienten ( $REE_{\text{Kalo}} r=0,744, p=0,006$ ;  $REE_{\text{HB}} r=0,658, p=0,02$ ;  $TEE r=0,810, p=0,001$ ) und Kontrollen ( $REE_{\text{Kalo}} r=0,646, p=0,023$ ;  $REE_{\text{HB}} r=0,837, p=0,001$ ;  $TEE r=0,600, p=0,039$ ). Demzufolge nahm mit zunehmender prozentualer Fettmasse, indirekt bestimmt nach der Formel von Kushner (NASH-Patienten:  $REE_{\text{Kalo}} r=-0,647, p=0,016$ ;  $TEE r=-0,669, p=0,017$ ;  $AEE r=-0,640, p=0,025$ ) der Energieumsatz ab.

Tabelle 14: Kenngrößen des Energieumsatzes gemessen mit dem SensewearArmband von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit	Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		12	12
<b>Gesamtenergieumsatz pro Tag</b>	kcal/d	2525 $\pm$ 562 (1749-3639)	2431 $\pm$ 512 (1386-3131)
<b>Gesamtenergieumsatz pro kg Körpergewicht</b>	kcal/kg	32 $\pm$ 6 (24-42)	30 $\pm$ 5 (23-42)
<b>Energieumsatz durch körperliche Aktivität pro Tag (MET &gt; 2,5)</b>	kcal/d	630 $\pm$ 446 (144-1353)	520 $\pm$ 380 (0-1417)
<b>Energieumsatz durch körperliche Aktivität pro kg Körpergewicht (MET &gt; 2,5)</b>	kcal/kg	8 $\pm$ 6 (2-22)	7 $\pm$ 5 (2-19)
<b>Dauer der körperlichen Aktivität (MET &gt; 2,5)</b>	min/d	141 $\pm$ 106 (31-357)	108 $\pm$ 82 (0-233)
<b>Schrittzahl</b>	/d	10088 $\pm$ 2458 (4656-13686)	8318 $\pm$ 4300 (344-13660)

### 4.5.3 Vergleich von Ruheenergieumsatzmessung mittels indirekter Kalorimetrie und SensewearArmband

Ziel des hier dargelegten Vergleiches war es, die Genauigkeit der Bestimmung des Ruheenergieumsatzes mittels der verhältnismäßig neuen Methode des SensewearArmbandes gegenüber der als Goldstandard in der Ernährungsmedizin geltenden indirekten Kalorimetrie zu untersuchen.

Verglich man nun den Ruheenergieumsatz aller 15 in der vorliegenden Studie rekrutierten Patienten mit histologisch nachgewiesener nichtalkoholischer Steatohepatitis

( $REE_{HB}$   $1594,9 \pm 286,7$  kcal/d,  $REE_{Kalo}$   $1424,7 \pm 228,2$  kcal/d,  $REE_{SW}$   $1721,2 \pm 317,0$  kcal/d) mit den 25 eingeschlossenen gesunden Kontrollpersonen ( $REE_{HB}$   $1624,4 \pm 255,3$  kcal/d,  $REE_{Kalo}$   $1506,5 \pm 276,7$  kcal/d,  $REE_{SW}$   $1985,2 \pm 292,6$  kcal/d), so kristallisieren sich in keiner der drei angewandten Methoden Signifikanzen heraus. Im Rahmen der Ergebnisauswertung war jedoch zu berücksichtigen, dass der Grundumsatz mittels SensewearArmband aus Kapazitätsgründen insgesamt nur bei zehn Patienten und bei sechs Gesunden gemessen werden konnte.

Die Werte der Patienten ( $n=10$ ) und Kontrollen ( $n=6$ ), bei denen die Messung des Ruheenergieumsatzes mit der indirekten Kalorimetrie ( $1595,7 \pm 264,0$  kcal/d (2113,3-1091)) **und** dem SensewearArmband ( $1820,2 \pm 325,9$  kcal/d (2356-1355)) erfolgte, sind in Abbildung 4 wiedergegeben. Die mittlere Differenz beider Methoden lag bei  $-224,6 \pm 271,0$  kcal/d (317,5- -766,4). Dies bedeutet, dass das SensewearArmband gegenüber der indirekten Kalorimetrie den REE überschätzte (14 %).

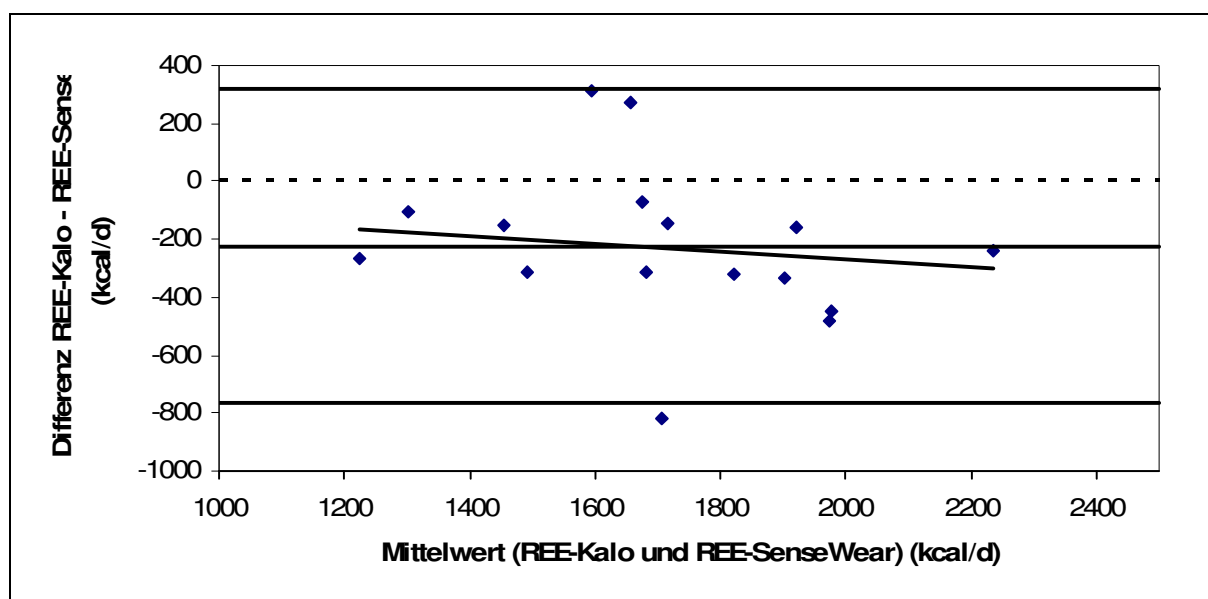


Abbildung 4: Bland-Altman-Darstellung von  $REE_{Kalo}$  und  $REE_{SW}$  bei NASH-Patienten

#### 4.5.4 Korrelation zwischen Ruheenergieumsatz und Körperzusammensetzung

Die in der Arbeit untersuchten Zusammenhänge zwischen dem mittels indirekter Kalorimetrie gemessenen Ruheenergieumsatz und der Körperzusammensetzung sind in Tabelle 15 wiedergegeben.

In der Patienten- und der Kontrollgruppe war eine positive Korrelation zwischen dem Ruheenergieumsatz und der fettfreien Masse sowohl bestimmt nach der BIA-Methode als auch bestimmt mittels Anthropometrie zu beobachten.

Ebenfalls positiv korrelierten in beiden Kollektiven der  $REE_{KALO}$  mit der Körperzellmasse in kg.

Tabelle 15: Korrelation zwischen dem mittels indirekter Kalorimetrie gemessenen Ruheenergieumsatz und der Körperzusammensetzung von NASH-Patienten und deren alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollpersonen

	Methoden	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		12	12
<b>Fettfreie Masse [kg]</b>	BIA	0,678 (p= 0,015)	0,686 (p= 0,014)
<b>Fettfreie Masse [kg]</b>	Anthropometrie	0,755 (p= 0,005)	0,712 (p= 0,009)
<b>BCM [kg]</b>	BIA	0,744 (p= 0,006)	0,646 (p= 0,023)

#### 4.5.5 Drei-Tages-Ernährungsprotokoll

Die NASH-Patienten nahmen täglich tendenziell weniger Energie zu sich als die gesunden Personen sowohl in Absolutwerten als auch bezogen auf das Körpergewicht. Bei der täglichen Nahrungszufuhr sollten laut DGE [47] bei der Energiezufuhr die Hauptnährstoffe im Verhältnis 55 % Kohlenhydrate, 30 % Fette und 15 % Eiweiße zueinander stehen. Diese Nährwertrelationen lassen sich in Tabelle 16 weitestgehend erkennen. Auffällig war die relativ hohe Zufuhr an Proteinen und Fetten und zu geringe Zufuhr an Kohlenhydraten in beiden Kollektiven. Zwischen den einzelnen Nährstoffen zeigten sich keine signifikanten Differenzen.

Mit zunehmendem Alter nahm bei den NASH-Patienten die Zufuhr der Gesamtenergie ( $r=-0,606$ ,  $p=0,037$ ) aber auch der einzelnen Nährstoffe (Fett:  $r=-0,605$ ,  $p=0,037$ ), KH  $r=-0,615$ ,  $p=0,033$ ) erwartungsgemäß ab.

Tabelle 16: Energie- und Hauptnährstoffzufuhr und Nährwertrelationen von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		12	12
<b>Energiezufuhr/ Körpergewicht</b>	kcal/kg	24 $\pm$ 9 (12-40)	26 $\pm$ 9 (15-43)
<b>Energiezufuhr/d</b>	kcal/d	1907 $\pm$ 650 (1040-3258)	2145 $\pm$ 731 (1124-3340)
<b>Proteinzufuhr/d</b>	g/d	78,5 $\pm$ 21,6 (52,8-120,5)	87,6 $\pm$ 28,8 (46,4-132,2)
<b>Proteinzufuhr in % der Gesamtenergiezufuhr</b>	%	17,7 $\pm$ 4,0 (12,0-26,0)	17,3 $\pm$ 4,6 (11,6-25,5)
<b>Fettzufuhr/d</b>	g/d	80,2 $\pm$ 30,4 (36,5-139,6)	96,3 $\pm$ 36,2 (53,3-151,6)
<b>Fettzufuhr in % der Gesamtenergiezufuhr</b>	%	39,1 $\pm$ 7,2 (30,5 $\pm$ 54,8)	41,8 $\pm$ 5,2 (30,8 $\pm$ 49,2)
<b>Kohlenhydratzufuhr/d</b>	g/d	184,3 $\pm$ 75,6 (89,9-370,4)	212,1 $\pm$ 3,0 (96,3-366,1)
<b>Kohlenhydratzufuhr in % der Gesamtenergiezufuhr</b>	%	40,1 $\pm$ 8,8 (21,9-48,3)	40,0 $\pm$ 6,5 (30,0-51,9)
<b>Alkoholzufuhr/d</b>	g/d	5,6 $\pm$ 8,9 (0-25,7)	10,4 $\pm$ 12,7 (0-33,2)
<b>Alkoholzufuhr in % der Gesamtenergiezufuhr</b>	%	1,8 $\pm$ 2,8 (0-8,0)	3,55 $\pm$ 4,1 (0-11,3)

#### 4.5.6 Energiebilanz

Bezogen auf den Grundumsatz war die mittlere Energiebilanz in beiden Kollektiven positiv (NASH-Patienten  $70 \pm 509$  kcal/d (-754-1122 kcal/d); Kontrollen  $134 \pm 977$  kcal/d (-1355-1692 kcal/d)), d. h. die Kalorienaufnahme lag über dem Umsatz.

Bei Verwendung des SensewearArmbandes war die mittlere Energiebilanz im Patientenkollektiv negativ ( $-606 \pm 560$  kcal/d (-1371-253 kcal/d)), die einzelnen Werte der Gruppe sind in Abbildung 5 dargestellt. Die gesunden Probanden wiesen eine nahezu ausgeglichene mittlere Energiebilanz auf ( $-0,16 \pm 792$  kcal/d (-1181-1395 kcal/d)), die einzelnen Werte findet man in Abbildung 6 wieder.

Zusätzlich erwähnt sei, dass eine positive Korrelation zwischen der Energiebilanz (bestimmt mithilfe des Grundumsatzes aus der indirekten Kalorimetrie) und der Energiebilanz (bestimmt mithilfe des SensewearArmbandes) beobachtet wurden (NASH-Patienten:  $r= 0,865$ ,  $p<0,001$ ; Kontrollen:  $r= 0,810$ ,  $p=0,001$ ).

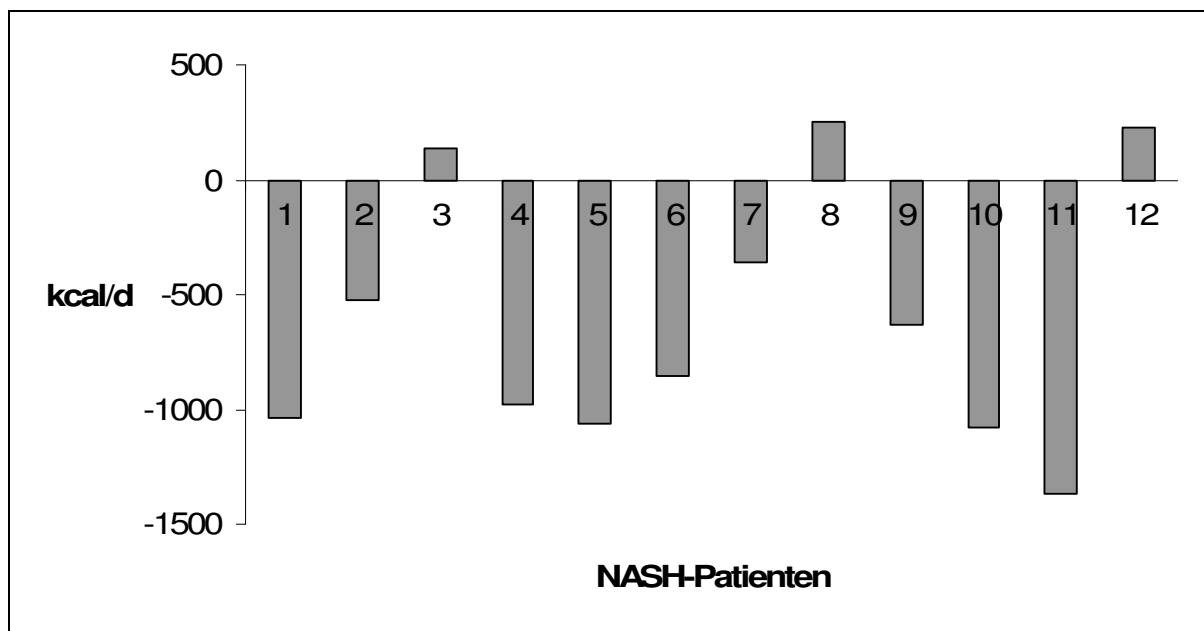


Abbildung 5: Energiebilanz der NASH-Patienten berechnet aus Kalorienaufnahme/d - TEE-SenseWear/d



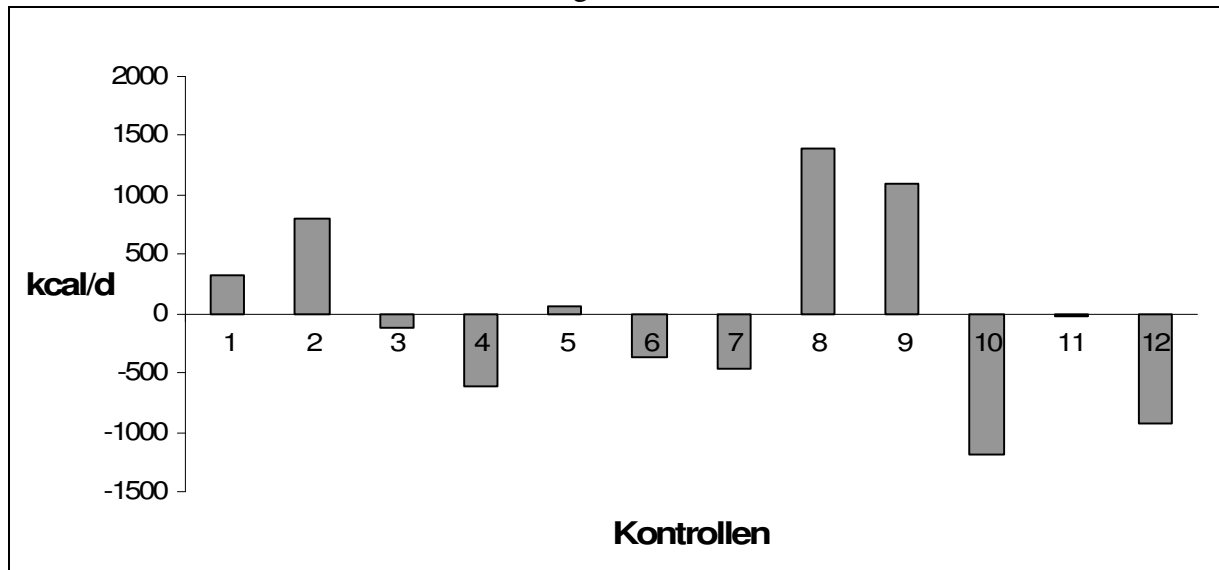


Abbildung 6: Energiebilanz der Kontrollen berechnet aus Kalorienaufnahme/d -  $TEE_{Sense-wear/d}$

#### 4.5.7 MET-Werte

Die MET-Werte der Patienten und deren alters-, geschlechts- und BMI-gemachten Kontrollen sind in Form von Boxplots in Abbildung 7 wiedergegeben. Tendenziell, aber ohne signifikante Unterschiede lagen die MET-Werte ( $1,33 \pm 0,26$  (1-1,8)) der Patienten über denen der Kontrollen ( $1,27 \pm 0,32$  (0,5-1,8)).

Wenn man sich an einem MET-Wert von 1 für normalgewichtige gesunde Personen orientiert, waren die einzelnen MET-Werte in beiden Gruppen nahezu unauffällig.

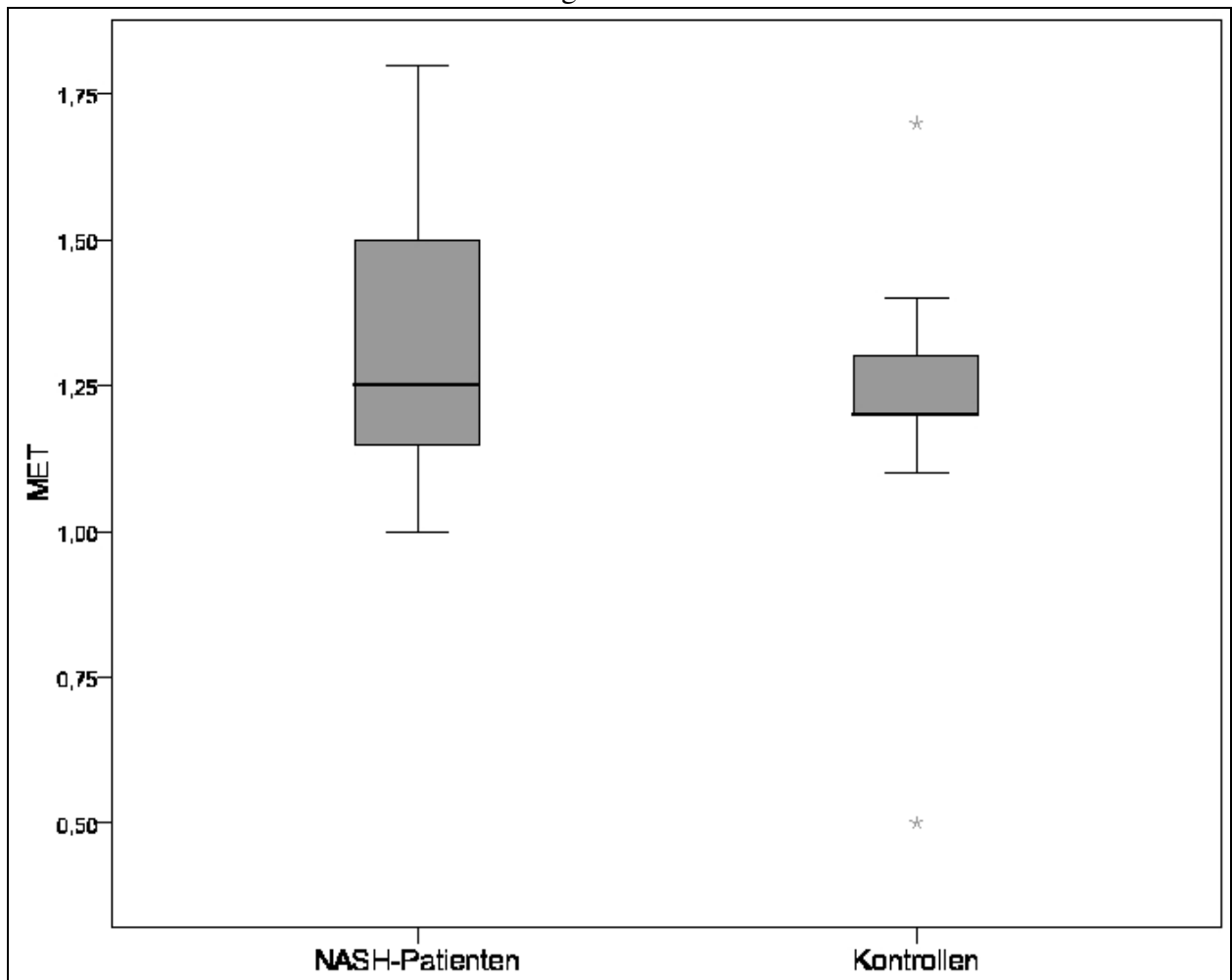


Abbildung 7: Boxplot der MET-Werte von NASH-Patienten und deren alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe

## 4.6 Laborparameter

### 4.6.1 Blutbild

Das kleine Blutbild in Tabelle 17 stellte sich unauffällig und bis auf die Leukozyten ohne signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen dar.

Bei den weißen Blutkörperchen fiel ein signifikanter Unterschied ( $p=0,023$ ) auf.

Tabelle 17: Basislaborparameter von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Normbereich	Einheit	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>			12	12
<b>Hämoglobin</b>	w 12-16 m 14-18	g/dl	14,7 $\pm$ 1,4 (12,9-16,8)	14,3 $\pm$ 0,7 (13,3-15,5)
<b>Hämatokrit</b>	w 0,37–0,47 m 0,40–0,54	l/l	0,44 $\pm$ 0,04 (0,39-0,50)	0,42 $\pm$ 0,02 (0,4-0,44)
<b>Erythrozyten</b>	w 3,9–5,4 m 4,6–6,2	/pl	4,8 $\pm$ 0,4 (4,2-5,4)	4,7 $\pm$ 0,2 (4,31-5,08)
<b>Leukozyten</b>	3,1–9,5	/nl	7,3 $\pm$ 2,0* (3,16-11,6)	5,2 $\pm$ 1,3 (2,8-7,5)
<b>Thrombozyten</b>	130-340	/nl	240 $\pm$ 60 (86-302)	258,±48 (152-343,0)
<b>MCV</b>	86-101	fl	90 $\pm$ 3 (85-96)	90 $\pm$ 3 (83-93)

\*p < 0,05

#### 4.6.2 Leberwerte

Die Erhöhung der Transaminasen, in Tabelle 18 ersichtlich, ist häufig der erste Hinweis für eine NASH [4, 18, 74]. Die meist geringe Erhöhung von ALT und AST im Serum um das zwei- oder dreifache fand man bei allen Patienten. Ein weiterer Parameter für die Abgrenzung der nichtalkoholischen Steatohepatitis (NASH) gegenüber der alkoholischen Steatohepatitis (ASH) ist der deRitis-Quotient, der bei der nichtalkoholischen Steatohepatitis häufig < 1 liegt.

Dies bestätigte sich auch in den vorliegenden Untersuchungen mit einem mittleren Quotienten von 0,9 im Patientenkollektiv.

Tabelle 18: Leberwerte von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Normwerte	Einheit	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>			12	12
<b>Alanin-Aminotransferase (ALT)</b>	w $\leq$ 34 m $\leq$ 45	U/l	67 $\pm$ 27** (33-121)	29 $\pm$ 12 (11-57)
<b>Aspartat-Aminotransferase (AST)</b>	w $\leq$ 35 m $\leq$ 50	U/l	50 $\pm$ 21* (25-99)	32 $\pm$ 6 (22-46)
<b>Alkalische Phosphatase (AP)</b>	w $\leq$ 35 - 104 m $\leq$ 40 - 129	U/l	108 $\pm$ 48* (45-214)	64 $\pm$ 16 (42-90)
<b><math>\gamma</math>-Glutamyltransferase (<math>\gamma</math>-GT)</b>	w $\leq$ 38 m $\leq$ 55	U/l	180 $\pm$ 158** (28-530)	25 $\pm$ 12 (11-54)
<b>Cholinesterase (CHE)</b>	> 5,3	kU/l	10 $\pm$ 2 (7-14)	nicht bestimmt
<b>deRitisQuotient AST/ALT</b>			0,9 $\pm$ 0,2* (0,3-3,0)	1,29 $\pm$ 0,2 (0,7-3,3)

\*p < 0,05, \*\*p < 0,005

### 4.6.3 Fettstoffwechsel

Als Risikofaktor für die Entstehung einer Fettleber oder einer Steatohepatitis gilt u. a. eine Hyperlipidämie mit Hypercholesterinämie und/oder Hypertriglyceridämie [5, 12, 15, 33] im Rahmen eines Metabolischen Syndroms. Deshalb wurden in der vorliegenden Studie die Blutfette, bestimmt (Tabelle 19). Auffällig war eine Hyperlipidämie bei insgesamt 8 (67 %) NASH-Patienten und 9 (75 %) Kontrollpersonen. Davon wurden bei 3 (25 %) Patienten erhöhte Triglyceride und bei fünf (41,7 %) Patienten ein erhöhtes Gesamtcholesterin gemessen. HDL-Cholesterin lag im gesamten Patientenkollektiv im Normbereich. In der Kontrollgruppe

wiesen 9 (75 %) Personen eine Hypercholesterinämie und 3 (25 %) Personen eine Hypertriglyceridämie auf. Lipidsenkende Medikamente (Statine) nahmen 3 (25 %) Patienten ein. Zusammenfassend ist zu sagen, dass keine signifikanten Unterschiede zwischen der Patienten- und Kontrollgruppe auftraten.

Tabelle 19: Fettstoffwechsel von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Normwerte	Einheit	Patienten	Kontrollen
<b>n</b>			12	12
<b>Triglyceride</b>	<180	mg/dl	152 $\pm$ 57 (79-291)	128 $\pm$ 60 (65-233)
<b>Gesamtcholesterin</b>	<200	mg/dl	207 $\pm$ 36 (161-280)	223 $\pm$ 28 (178-263)
<b>HDL-Cholesterin</b>	w > 45 m > 35	mg/dl	67 $\pm$ 42 (40-196)	nicht bestimmt
<b>LDL-Cholesterin</b>	<180	mg/dl	129 $\pm$ 35 (74-189)	nicht bestimmt

#### 4.6.4 Glucosestoffwechsel

Ein weiterer maßgeblicher Risikofaktor für die Entstehung der nichtalkoholischen Steatohepatitis ist die Insulinresistenz, die sich auch in der vorliegenden Studie in den deutlich erhöhten basalen Insulinwerten der Patienten in Tabelle 20 widerspiegelt. Die signifikante Abweichung ( $p=0,033$ ) zwischen den Werten der Patienten und gesunden Kontrollen bestärkte diese Aussage. Einen weiteren Hinweis auf eine Insulinresistenz gab der deutlich erhöhte mittlere Wert des HOMA-Index der Patienten ( $3,5\pm 2,9$  (0,7-10,1)), der sich ebenso signifikant ( $p=0,013$ ) von dem der Kontrollen ( $1,6\pm 0,8$  (0,9-3,5)) unterschied. Der HOMA-Index ist als Boxplot in Abbildung 8 dargestellt. Insgesamt hatten 7 Patienten und 3 Kontrollen einen HOMA-Index > 2.

Im Patientenkollektiv fielen im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant höhere Nüchternblutzucker ( $p = 0,003$ ) auf. Ebenfalls signifikant erhöht in der Patientengruppe waren die Blutzuckerwerte 60 Minuten ( $p=0,014$ ) und 120 Minuten ( $p=0,005$ ) nach der Glucoseaufnahme.

Tabelle 20: Blutzuckerwerte im oralen Glucosetoleranztest, basales Insulin und HOMA-Index von NASH-Patienten ohne vorbestehenden Diabetes mellitus Typ II und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit	NASH-Patienten	Kontrollen
<b>n</b>		11 <sup>#</sup>	12
<b>BZ 0</b>	mg/dl	106,9 $\pm$ 33,1** (85,0-199,0)	82,0 $\pm$ 9,4 (70,0-102,0)
<b>BZ 60</b>	mg/dl	201,5 $\pm$ 80,2* (113,0-404,0)	151,8 $\pm$ 34,0 (106,0-226,0)
<b>BZ 120</b>	mg/dl	178,5 $\pm$ 102,6* (102,0-431,0)	97,9 $\pm$ 33,7 (58,0-167,0)
<b>Insulin 0</b>	mU/l	12,0 $\pm$ 6,7* (3,2-24,5)	8,0 $\pm$ 3,5 (5,0-15,0)

\* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,005$

# bei einem NASH Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus wurde kein OGTT durchgeführt

Wie bereits in Tabelle 8 aufgeführt, war bei einem der 12 NASH-Patienten bereits ein Diabetes mellitus Typ II bekannt, bei 2 Patienten (16,7 %) wurde ein DM-Typ II im Rahmen des oralen Glucosetoleranztestes neu diagnostiziert. In der Kontrollgruppe fielen bei einer der Personen ein erhöhter Nüchternblutzucker und damit eine gestörte Glucosetoleranz auf.

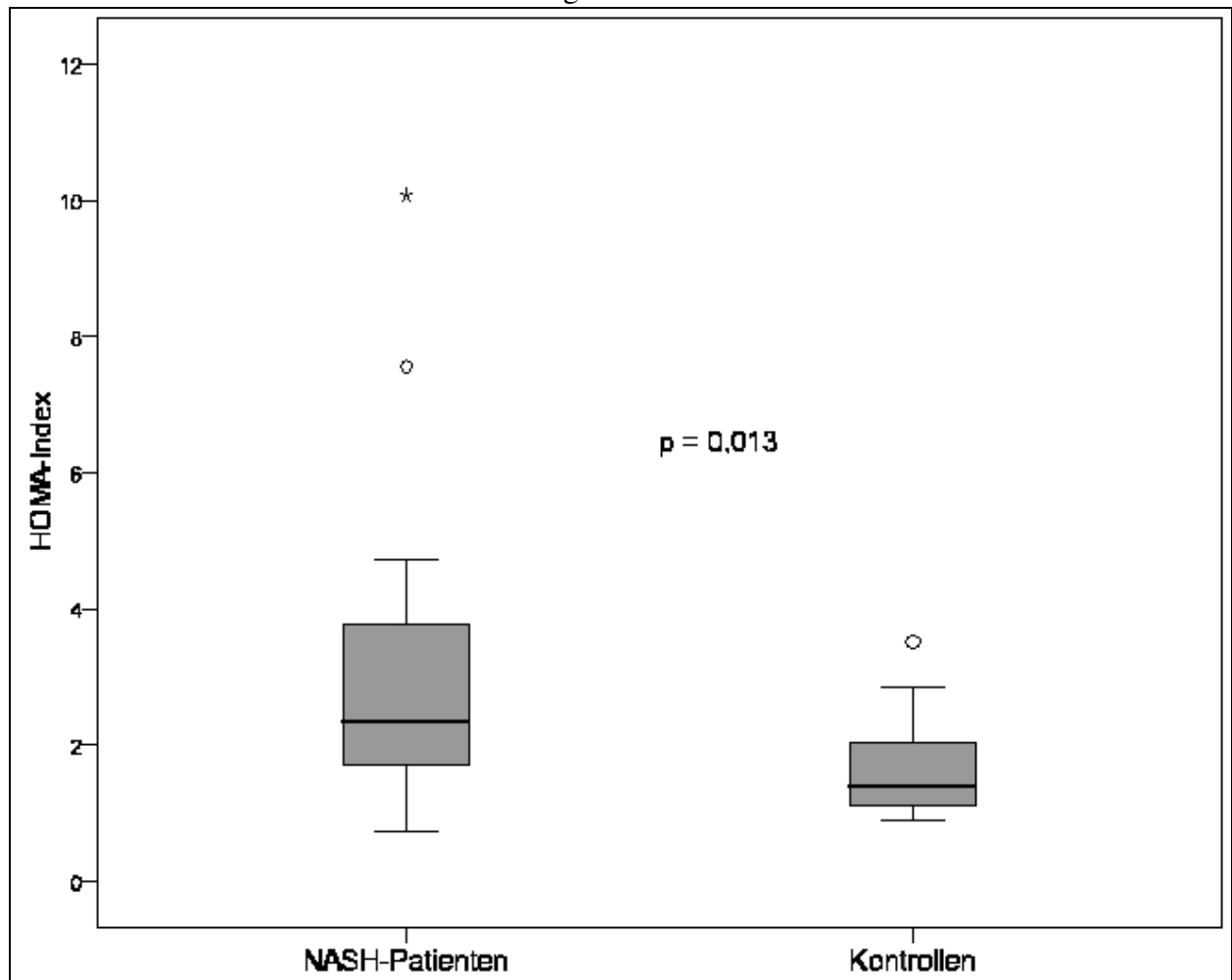


Abbildung 8: Boxplot HOMA-Index von NASH-Patienten ohne vorbestehenden Diabetes mellitus Typ II und deren alters- geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe

#### 4.6.5 Weitere Laborparameter

Ferritin, Transferrin und Transferrinsättigung lagen im Normbereich, so dass Störungen im Eisenstoffwechsel ausgeschlossen werden konnten. Auch die molekulargenetische Analyse des HFE-Genotyps ergab keinen Hinweis auf das Vorliegen einer Hämochromatose. Die Werte für Coeruloplasmin waren nicht vermindert, sodass das Vorhandensein einer Kupferspeicherkrankheit unwahrscheinlich war. Neben den Siderosen und Kupferspeicherkrankheiten konnte ein  $\alpha$ 1-Proteaseninhibitormangel als hereditäre Stoffwechselerkrankung mit einer normalen  $\alpha$ 1-Proteaseinhibitor-Konzentration im Serum weitestgehend ausgeschlossen werden. Die Hepatitisserologie war bei allen Patienten und Kontrollen negativ. Weiterhin war aufgrund der unauffälligen Autoantikörper ANA, AMA-M2, LKM, SLA, SMA, pANCA und cANCA nicht von einer autoimmunen Genese als Ursache für die Lebererkrankung der Patienten auszugehen.

## 4.7 Histologie der Lebergewebeproben

Tabelle 21: Histologische Bewertung der Leberbiopsien von NASH-Patienten

Patientennr.:	Geschlecht	Grad nach Brunt	Steatosis	Ballionierte Hepatozyten	Entzündliche Aktivität
1	W	Grad II	~60 % grob-tropfig	n. v.	portal/septal: locker
2	W	Grad II	50 % gemischt-tropfig	vorhanden	gering
3	W	Grad I	~60 % gemischt-tropfig	diffus stark balloniert	portal: diskret
4	W	Grad I	~30 % gemischt-tropfig	n. v.	n. v.
5	W	Grad I	>90 % gemischt-tropfig	n. v.	gering, uncharakteristisch
6	W	Grad I	~40 % gemischt-tropfig	vereinzelt	portal: diskret
7	W	Grad II	~70 % grob-tropfig	n. v.	lobulär: gering fokal, portal: n.v.
8	M	Grad I	~30 % gemischt-tropfig	n. v.	Portal: gering
9	M	Grad I	~30 % gemischt-tropfig	n. v.	portal: moderat
10	M	Grad I	~15 % gemischt-tropfig	n. v.	lobulär: gering
11	M	Grad I	~30 % gemischt-tropfig	n. v.	portal: gering
12	M	Grad II	~70 % gemischt-tropfig	n. v.	portal: moderat

n. v.: nicht vorhanden, k. A.: keine Angabe



Die Patienten der vorliegenden Arbeit litten an einer leichten bis moderaten nichtalkoholischen Steatohepatitis, schwere Formen wurden nicht beobachtet. Nach der histologischen Einteilung der Gewebeproben nach Brunt [46] wiesen 66,7 % (4m, 4w) der NASH-Patienten einen Grad I nach Brunt und 33,3 % (1m, 3w) einen Grad II nach Brunt auf. Die histologischen Befunde der Gewebeproben sind in Tabelle 21 dargestellt.

## **4.8 Veränderungen der Darmpermeabilität und -wanddicke**

### **4.8.1 Intestinaler Permeabilitätstest**

Eine erhöhte gastroduodenale Permeabilität (Saccharoseausscheidung im Harn) wurde bei 30 % der Patienten und bei 20 % der Probanden festgestellt. Die Mittelwerte unterschieden sich nicht signifikant.

Eine erhöhte intestinale Permeabilität (Quotient aus Laktulose/Mannitol-Ausscheidung im Harn) wurde bei jeweils 20 % der Patienten und Kontrollen festgestellt. Die Mittelwerte der intestinalen Permeabilitätsindizes (Patienten:  $0,0235 \pm 0,0136$  (0,01-0,06); Kontrollen:  $0,0185 \pm 0,0077$  (0,01-0,03)) zeigten ebenfalls keinen signifikanten Unterschied. Dargestellt sind die Werte als Boxplot in Abbildung 9.

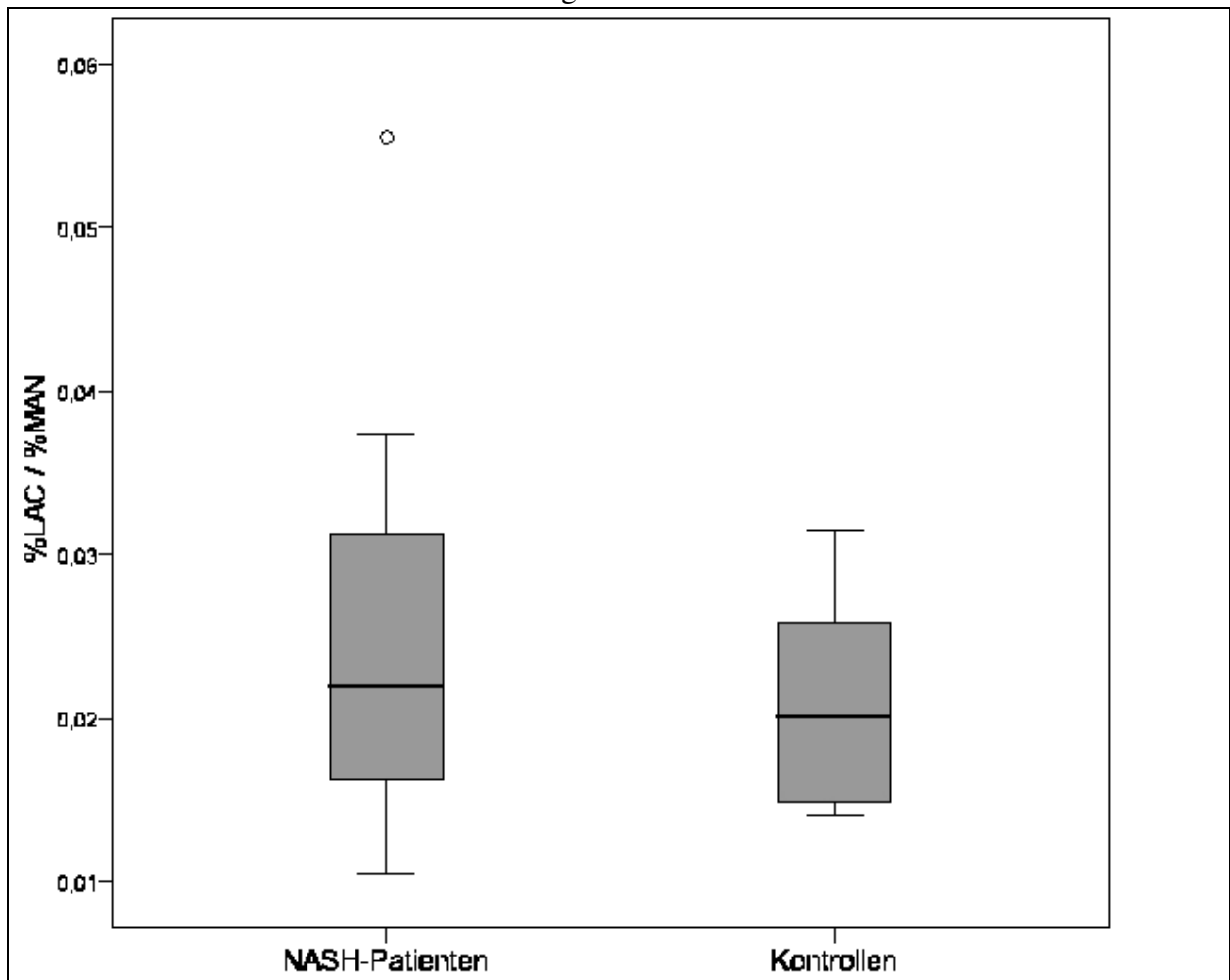


Abbildung 9: Boxplot des intestinalen Permeabilitätstests von NASH-Patienten und deren alters-, geschlechts- und BMI-gemachter Kontrollgruppe

#### 4.8.2 Sonographische Bestimmung der Darmwanddicken

Die Darmwände zeigten weder bei den Patienten noch bei den Kontrollen eine Verdickung im Sinne einer pathologischen Veränderung im Ultraschall. Die Messungen sind in Tabelle 22 wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied ( $p= 0,046$ ) zwischen den Kollektiven ließ sich im terminalen Ileum mit einer größeren Dicke bei den NASH-Patienten beobachten.

Tabelle 22: Sonographisch gemessene Darmwanddicken von NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe als Mittelwert $\pm$ SD (Range)

Messgröße	Einheit	Patienten	Kontrollen
n		12	12
<b>terminales Ileum</b>	mm	1,8 $\pm$ 0,8* (1,0-3,6)	1,2 $\pm$ 0,3 (0,9-1,8)
<b>Colon ascendens</b>	mm	1,6 $\pm$ 0,4 (1,2-2,4)	1,6 $\pm$ 0,5 (1,1-2,5)
<b>Colon transversum</b>	mm	1,7 $\pm$ 0,3 (1,3-2,3)	1,6 $\pm$ 0,6 (0,9-2,5)
<b>Colon descendens</b>	mm	1,9 $\pm$ 0,4 (1,3-2,6)	1,9 $\pm$ 0,4 (1,2-2,5)
<b>Sigma</b>	mm	1,9 $\pm$ 0,4 (1,3-2,3)	2,2 $\pm$ 0,8 (1,6-4,0)

\*p < 0,05

#### 4.8.3 Calprotectin aus einer Nativstuhlprobe

Die Bestimmung von Calprotectin im Nativstuhl erfolgte bei neun Patienten der vorliegenden Arbeit. In fünf Fällen lagen die Werte unter der Nachweisgrenze und in vier Fällen wurden auffällige Calprotectinwerte im Bereich von 0,59-8,99 mg/l gemessen. Daher wurden in der Darmwand keine entzündlichen Prozesse in Größenordnungen gemessen, die mit dieser Methode nachweisbar wären.

## 5 Diskussion

Die nichtalkoholische Steatohepatitis gehört zur Gruppe der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankungen. Ist auch die Morphologie der NASH schon gut charakterisiert, weist das Wissen über Epidemiologie, Ätiologie, Pathogenese, natürlichen Verlauf und Prognose noch zahlreiche Lücken auf [1].

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, nutritive, metabolische und intestinale Faktoren bei nichtalkoholischer Steatohepatitis zu untersuchen. Im engeren Sinne standen dabei die Körperzusammensetzung, der Energiestoffwechsel, das Ernährungsverhalten sowie morphologische und funktionelle Veränderungen der Darmwand bei NASH im Vordergrund.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass es weder Unterschiede in der Körperzusammensetzung noch in der Energiebilanz oder im Ernährungsverhalten zwischen NASH-Patienten und der alters-, geschlechts- und BMI-gematchten Kontrollgruppe gab. Ebenso wurden keine morphologischen Veränderungen der Darmwand des Kolons oder der gastroduodenalen bzw. intestinalen Permeabilität bei NASH nachgewiesen. Auffällig war lediglich eine signifikante Erhöhung der Wanddicke des terminalen Ileums in der NASH-Gruppe. In der Gruppe der NASH-Patienten zeigte sich als Ausdruck einer Insulinresistenz ein pathologischer und im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöhter HOMA-Index, obwohl initial nur bei einem NASH-Patienten ein Diabetes mellitus Typ II bekannt war.

### 5.1 Prävalenz der NASH

Die NASH ist eine bekannte und häufig auftretende Erkrankung mit zunehmender Prävalenz, [14] insbesondere in der westlichen Welt. Deshalb gewinnt die kritische Betrachtung der Diagnostik an klinischer Bedeutung. Die Häufigkeit der reinen Fettleber beträgt etwa 20-30 % in der allgemeinen Bevölkerung. Von diesen Patienten entwickeln ca. 10 % eine NASH, die wiederum bei ca. 10 % in eine Leberzirrhose übergeht [6].

In der vorliegenden Studie wurde eine NASH bei 60 % der punktierten Patienten mit unklarer Transaminasenerhöhung und sonographisch nachgewiesener Fettleber diagnostiziert, was ein ungewöhnlich hoher Prozentsatz ist. Dabei ist zu berücksichtigen, dass es sich um ein vorselekti-

oniertes Patientengut einer Leberspezialsprechstunde handelt, wobei die Patienten mindestens bereits seit 6 Monaten eine Transaminasenerhöhung aufwiesen.

Dazu wird neben Tarantino et al. [5] auch in anderen Studien [16] diskutiert, dass die Leberbiopsie oft nur bei einer ausgewählten Subgruppe der Patienten mit nichtalkoholischer Fettleber erfolgt. Meist wird der invasive Eingriff nur bei schwereren Fällen durchgeführt oder aber auch aufgrund der vorliegenden Begleiterkrankungen wie z.B. Erkrankungen im Rahmen des Metabolischen Syndroms. Außerdem wird von den Autoren in Erwägung gezogen, dass nur Patienten mit ernsteren oder längeren Verläufen von NAFLD in hepatologischen Fachbereichen gesehen werden [5, 16]. Diese aufgeführten Fakten steigern natürlich die Häufigkeitsangaben der NASH in einzelnen Publikationen [5]. Die Aussage von Tarantino et al. [5] wird von den Ergebnissen Kashyaps [7] unterstützt. In dieser Studie handelte es sich allerdings nicht vorrangig um NAFLD-Patienten, sondern um schwer morbid adipöse Patienten (mittlerer BMI 48 kg/m<sup>2</sup>) vor einem adipositaschirurgischen Eingriff. Bei 143 dieser Patienten erfolgte eine Leberbiopsie, wovon 18 % eine NASH, 28 % eine Borderline NASH, 23 % eine reine Fettleber und 30 % keine Fettleber hatten [7].

## 5.2 Insulinresistenz und Metabolisches Syndrom

Jeder in der vorliegenden Arbeit untersuchte NASH-Patient wies mindestens einen Risikofaktor für das Metabolische Syndrom auf. Diese Tatsache untermauert die Aussage vorheriger Arbeiten, die die nichtalkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) immer häufiger als die hepatische Manifestation des Metabolischen Syndroms ansehen [14, 16, 20, 21].

Zahlreiche NAFLD-Patienten weisen außerdem bezüglich der Kriterien des Metabolischen Syndroms eine positive Familienanamnese auf [21], so auch die NASH-Patienten der vorliegenden Arbeit.

In den präsentierten Daten ließen sich zwar in beiden Gruppen ähnlich häufig Merkmale des Metabolischen Syndroms erkennen. In der Patientengruppe fielen jedoch signifikant höhere basale Insulin- und Blutzuckerwerte sowie ein signifikant erhöhter HOMA-Index als Zeichen einer Insulinresistenz auf. Dieses Ergebnis ist kongruent zu Daten von Chitturi et al. [12] und weiterer Autoren [5, 12, 14, 16, 21, 75]. Dabei wiesen drei NASH-Patienten zwar einen erhöhten HOMA-Index  $\geq 2$  jedoch weder eine gestörte Glucosetoleranz noch einen DM auf. So beschreiben auch Marchesini et al., dass die bei der NAFLD/NASH auftretende herabgesetzte Insulinsensitivität mit verminderten Wirkungen im Glucose- und Lipidstoffwechsel nicht zwingend mit einer Glu-

cosetoleranz, einem Diabetes mellitus oder Adipositas assoziiert ist [21]. Es ist davon auszugehen, dass in einer Untergruppe von Patienten eine bezüglich des Blutglucosespiegels latente Insulinresistenz bereits frühzeitig an der Leber manifest wird. Daher muss die Durchführung eines oralen Glucosetoleranztests mit paralleler Insulinbestimmung bzw. die Bestimmung des HOMA-Index bei allen Patienten mit Verdacht auf NASH als obligat betrachtet werden.

In Übereinstimmung mit früheren Studien [7, 9, 15] wies die Mehrheit der NASH-Patienten in der vorliegenden Arbeit (67 %) auch eine Dyslipidämie auf. Es ist dabei zu berücksichtigen, dass 3 (25 %) der Patienten lipidsenkende Medikamente (Statine) einnahmen und damit die Zahl der NASH-Patienten mit Dyslipidämie schon positiv beeinflusst wurde.

Insbesondere die Hypertriglyceridämie lag jedoch in der vorliegenden Pilotstudie lediglich bei >152 mg/dl (Mittelwert) und war damit in den genannten Arbeiten deutlich ausgeprägter (>230 mg/dl). Überdies wurden im Kontrollkollektiv ähnliche Ergebnisse wie in der NASH-Patientengruppe gefunden. 75 % der Kontrollen hatten eine Dyslipidämie (75 % Hypercholesterinämie und 25 % Hypertriglyceridämie). Damit erscheint der Nachweis einer Dyslipidämie zwar auch als typisches Merkmal des mit NASH assoziierten Metabolischen Syndroms, in der diagnostischen Wertigkeit bezüglich der Pathogenese der NASH ist eine Fettstoffwechselstörung jedoch im Vergleich zum HOMA-Index von untergeordneter Bedeutung.

Insulinresistenz und das Metabolische Syndrom andererseits sind typische Folgen von Überernährung. Entsprechend stellen zahlreiche Studien auch immer wieder den Zusammenhang zwischen Adipositas/Übergewicht und NAFLD in den Vordergrund [14, 30, 76]. Auch in der vorliegenden Studie ist zu sehen, dass ein Teil der Übergewichtigen/Adipösen eine nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH-Patienten) entwickelt.

Andererseits beschrieb Speliotes et al 2010 eine genetische Variation (single nucleotide polymorphisms (SNPs) in der Nähe von Loci 7), die zwar mit einem erhöhten Risiko einer NAFLD einhergeht, jedoch ohne ein erhöhtes Risiko eines Metabolischen Syndroms [77] oder eines Diabetes mellitus Typ II. Auf das Vorliegen einer Insulinresistenz bei diesen Patienten wird nicht explizit eingegangen.

In der vorliegenden Studie waren 2 Patienten normalgewichtig. Es erfolgte jedoch bei diesen Patienten keine genetische Untersuchung, so dass offen bleibt, ob diese beiden Patienten zu der von Speliotes et al. beschriebenen Gruppe gehören oder nicht.

Interessanterweise wurde in der vorliegenden Arbeit eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöhte, wenn auch im Normbereich liegende Leukozytenzahl (7,3/nl vs. 5,2/nl) bei den NASH-Patienten beobachtet. Betrachtet man das weiße Blutbild als Indikator für chronische Entzündungen, lässt sich der Zusammenhang mit chronisch entzündlichen Leberveränderungen, wie sie bei der NASH auftreten, herstellen. Eine erhöhte Leukozytenzahl im peripheren Blut wurde bereits in früheren Studien mit dem Metabolischen Syndrom in Verbindung gebracht [78, 79]. In einer kürzlich erschienenen südkoreanischen Studie wurden erhöhte Leukozytenzahlen im peripheren Blutbild sogar unabhängig von klassischen kardiovaskulären Faktoren oder anderen Komponenten des Metabolischen Syndroms im Rahmen einer NAFLD beschrieben [80].

### **5.3 NASH und kardiovaskuläre Erkrankungen**

Die NAFLD tritt bei knapp einem Drittel der Normalbevölkerung und bei der Mehrheit der Patienten mit kardiometabolischen Risikofaktoren auf [81]. Zunehmend wird daher heute auch der mögliche Einfluss der nichtalkoholischen Steatohepatitis bei der Entwicklung von kardiovaskulären Erkrankungen diskutiert [81].

Mehrere Arbeiten zeigen, dass NAFLD-Patienten eine höhere Prävalenz für kardiovaskuläre Erkrankungen haben [81 - 83]. Diese Assoziation zwischen NAFLD und koronaren, cerebrovasculären und peripheren vaskulären Erkrankungen scheint unabhängig von klassischen Risikofaktoren wie Störungen im Glucosestoffwechsel oder dem Metabolischen Syndrom zu sein [81, 82]. Targher et al. legen in einem Review von 2006 dar, dass die Schwere der Leberhistologie bei NAFLD/NASH-Patienten in enger Beziehung zu Merkmalen der frühen Atherosklerose wie z.B. verstärkte Dicke der Intima media der Arteria carotis oder niedrigere endotheliale Vasodilatation steht [81]. Außerdem geht die nichtalkoholische Leberverfettung mit einer erhöhten allgemeinen Mortalität einher und scheint kardiovaskuläre Erkrankungen zu begünstigen [81]. Targher et al. fassten in ihrer Arbeit zusammen, dass bei der NAFLD und der Atherosklerose ähnliche molekulare Mediatoren beteiligt sind und dass damit die NAFLD nicht mehr nur als Marker sondern vielmehr als ein früher Auslöser einer Atherosklerose fungiert [81].

Weniger als direkten Auslöser, sondern vielmehr als ein Begleitphänomen beschreiben McKimmie et al. [84] die NAFLD im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen. Sie betonen, dass der enge Zusammenhang zwischen atherogenen Markern, viszeraler Adipositas und Elementen des Metabolischen Syndroms die NAFLD in den Vordergrund rückt und zwar als Zeichen eines systemischen, pro-atherogenen, entzündlichen Stadiums der Adipositas.

Bezüglich kardiovaskulärer Krankheiten erfolgten in der vorliegenden Arbeit keine Untersuchungen, so dass sich nur Vermutungen anstellen lassen. Eine starke Assoziation zwischen NASH, viszeraler Fettverteilung und kardiovaskulären Erkrankungen liegt aber sehr nahe. Bis auf einen zeigten alle NASH-Patienten eine pathologisch erhöhte viszerale Fettverteilung. Somit ist davon auszugehen, dass die Mehrheit der untersuchten NASH-Patienten auch ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen hat.

Die bisherigen Interventionsstudien sprechen dafür, dass Maßnahmen, die effektiv kardiovaskulären Erkrankungen vorbeugen, wie z.B. Gewichtsreduktion, vermehrte körperliche Aktivität, eine medikamentöse Therapie mit Insulinsensitizern (Metformin und Glitazone) oder Lipidsenkern (Statine) auch eine NAFLD verbessern [81, 82].

#### **5.4 Aspekte der Diagnostik, Transaminasen und Histologie**

Der erste klinische Hinweis auf eine NAFLD ist meist eine milde bis moderate Erhöhung der Transaminasen [4, 18, 39, 74], die dazu führt, dass die Patienten weiter hepatologisch abgeklärt werden. Auf dieser Aussage beruht auch das Vorgehen dieser Pilotstudie. Entsprechend der um das 2-3fach erhöhten Transaminasenwerte wurden die Patienten in die vorliegende Studie eingeschlossen und zur Diagnosesicherung der NASH eine Leberbiopsie durchgeführt.

Insbesondere die Alanin-Aminotransferase wurde in einer vorherigen Studie als wichtiger Biomarker für das Risiko einer NASH sowie des Metabolischen Syndroms, des Diabetes mellitus Typ II und von kardiovaskulären Krankheiten betrachtet [85]. Normale ALT-Werte schließen jedoch eine Steatohepatitis in der Leberbiopsie nicht sicher aus [22]. Fracanzani et al. gehen so weit, auch ohne eine Transaminasenerhöhung beim Vorliegen eines pathologischen Glucosestoffwechsels oder einer Insulinresistenz eine Leberbiopsie zur Abklärung der Schwere der Lebererkrankung und deren Progress zu empfehlen [22].

Die Transaminasenwerte bei der NAFLD/NASH muss man dementsprechend im Zusammenhang mit anderen klinischen Symptomen betrachten und natürlich andere Lebererkrankungen ausschließen.

Messier et al. bestimmten bei 104 adipösen postmenopausalen Frauen, die sie in die Gruppen *metabolisch gesund* (MHO) und *mit Risikofaktor Insulinresistenz* unterteilten, u. a. die Leberenzyme und den Fettleberindex. Die Gruppe der MHO wies signifikant niedrigere ALT, AST, und  $\gamma$ GT-Werte, geringere Blutfette sowie einen geringeren Fettleberindex auf. Messier et al. diskutierten, dass diese metabolisch gesunden adipösen postmenopausalen Frauen aufgrund der



niedrigeren Leberenzyme, insbesondere der geringeren ALT-Werte, auch eine weniger schwere Insulinresistenz und eine mildere Ausprägung der Leberverfettung und somit letztendlich ein „protective profile“ aufwiesen [86]. Möglicherweise hat die gesunde übergewichtige Kontrollgruppe der eigenen Arbeit ebenfalls eine Art „protective profile“ und deshalb eine niedrigere Insulinresistenz und keine Leberwerterhöhung oder NAFLD/NASH. Zu berücksichtigen ist bei diesem Vergleich allerdings, dass es sich in der vorliegenden Arbeit um prä- und postmenopausale Frauen sowie um Männer handelt, Messier et al. allerdings nur postmenopausale adipöse Frauen untersuchten [86].

Bezüglich der diagnostischen Wertigkeit der Leberbiopsie für die NAFLD lassen sich drei Hauptbereiche nennen: 1.) zur Erstellung einer morphologischen Diagnose, inklusive einer Unterscheidung zwischen einfacher Steatosis hepatis und einer Steatohepatitis, 2.) zur aetiologischen Klärung durch Ausschluss anderer Lebererkrankungen, einschließlich der Fälle, die eine duale Pathologie aufweisen und 3.) zur Bestimmung der Schwere der Erkrankung mit Hilfe eines Gratings und Stagings [87]. In weiteren Fällen wird die Leberbiopsie aufgrund des klinischen Verdachts einer NAFLD zusätzlich oder alternativ andere Lebererkrankungen aufdecken, denn eine NAFLD ist nicht selten ein Cofaktor einer anderen chronischen Lebererkrankung, hauptsächlich bei Hepatitis C [87].

In der vorliegenden Studie wurde bei insgesamt 15 Patienten (60 %) (von 25 biopsierten Patienten) eine nichtalkoholische Steatohepatitis diagnostiziert. Alle Gewebeproben wurden vom selben Untersucher beurteilt und nach dem NASH - Scoring System nach Brunt [46] von 1999 eingeteilt. Wegen der oben erwähnten strengen Matchingkriterien wurden nur bei den 12 alters-, geschlechts- und BMI gematchten NASH-Patienten die weiteren Untersuchungen durchgeführt. Bei 8 Patienten fand man eine NASH Grad I nach Brunt und bei 4 Patienten eine NASH Grad II nach Brunt [46]. Demzufolge handelt es sich tendenziell um leichtere bis mäßigschwere Krankheitsformen der nichtalkoholischen Steatohepatitis. Eine Vielzahl von Autoren berichtet über ähnliche Ergebnisse mit einem relativ großen Anteil an milder NASH (Grad I) [25, 36]. Unter anderem hatten in einer asiatischen Studie 63 % eine Grad I, 31 % eine Grad II und nur 6 % eine Grad III NASH [25].

Die Indikation einer Leberbiopsie zur Diagnostik der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung und der Steatohepatitis sollte nicht nur aufgrund von erhöhten Transaminasen gestellt werden. Sie sollte auch abhängig von einer frühen umfassenden klinischen Diagnostik und unter Rücksicht auf bestehende Manifestationen des Metabolischen Syndroms erfolgen.

## 5.5 Bedeutung des Ernährungszustands und der Körperzusammensetzung

Bis auf eine weibliche Patientin (BMI  $24 \text{ kg/m}^2$ ) lagen alle NASH-Patienten mit ihrem BMI über  $25 \text{ kg/m}^2$  und waren damit übergewichtig oder adipös (91,7 %). Dieses Ergebnis bestätigt die Aussage anderer Studien, die wiedergeben, dass Adipositas und Übergewicht einer der häufigsten Risikofaktoren der NAFLD ist [7, 14, 30, 76]. In einer Fallstudie von Rocha et al. mit 81 NAFLD-Patienten, bei denen der BMI bestimmt wurde, lagen 40 % im Bereich der Adipositas und 53 % im Bereich des Übergewichts[30]. Mit dem Body-Mass-Index kann man einfach und schnell das individuelle Körpergewicht in Beziehung zu einem idealen Durchschnitt setzen und somit insbesondere gesundheitsschädigendes Über- oder Untergewicht rasch erkennen. Allerdings haben die BMI-Grenzwerte der World Health Organisation (WHO) [49] Limitationen, da sie weder das Geschlecht noch das Alter ausreichend berücksichtigen, zumal gut belegt ist, dass die meisten Menschen im Laufe des Lebens an Gewicht zunehmen [88]. Dies wurde erst kürzlich wieder in einer Arbeit von Hemmelmann et al. anhand von Perzentilenkurven, die auf Daten der Nationalen Verzehrsstudie II (NVS II) basieren, bestätigt [88]. In dieser für die deutsche Bevölkerung repräsentativen Studie wurde gezeigt, dass 9 % der 20-29 Jährigen aber 29 % der 60-69 Jährigen adipös sind [88]. Außerdem gibt es jetzt für Deutschland, ebenfalls auf den Daten der NVS II gründend, repräsentative BMI-Perzentilen zur geschlechts- und altersabhängigen Evaluation des BMI [88]. Eine weitere Schwachstelle des BMI ist, dass er weder zwischen Muskelmasse und Fettgewebe noch zwischen der Fettverteilung unterscheidet. Fettgewebe im Gesäß- und Oberschenkelbereich bzw. subkutanes Fett hat nach aktueller Datenlage keinen oder einen vernachlässigbaren Einfluss auf die mit Übergewicht oft einhergehenden Störungen des Glucosestoffwechsel und der Insulinsensitivität sowie auf Herz- und Kreislauferkrankungen [23]. Im Gegensatz dazu steht das Fettgewebe im Bauchbereich, das durch Abgabe bestimmter Botenstoffe Entzündungen hervorrufen kann und sich negativ auf den gesamten Organismus auswirkt [23, 89, 90]. Ebenfalls durch die Maschen des Body-Mass-Index fallen sehr große und sehr kleine Personen. Trotz allem kann der leicht zu berechnende BMI bei einer kritischen Anwendung einen ersten Hinweis auf mögliche Gewichtsabnormalitäten geben und wird auch heute noch mit entsprechenden Grenzwerten von der WHO empfohlen [49]. Als alternative Meßmethoden zum BMI werden heute das Verhältnis von Bauchumfang zum Hüftumfang (WHR) und das Verhältnis von Bauchumfang zur Körpergröße (WhtR) benutzt.

In der vorliegenden Pilotstudie bewegten sich nahezu alle Werte des Taillenumfangs und der WHR der Patienten und Probanden im pathologischen Bereich und waren damit ein Zeichen für eine erhöhte abdominale Fettverteilung.

Die Verwendung des Taillenumfangs ist bisher der beste klinische Parameter, um die abdominale Fettverteilung zu messen [5, 16, 23, 91]. Stefan et al. beschrieben in ihrer Arbeit, dass die Bestimmung des viszeralen Fettgewebes ein wichtiges Instrument zur Differenzierung zwischen insulin sensitiven und insulinresistenten Probanden innerhalb von Normal- und Übergewichtigen ist [92]. Dies konnte in der vorliegenden Pilotstudie nicht bestätigt werden, denn wie erwähnt waren sowohl bei den NASH-Patienten als auch bei den Gesunden pathologische WHR zu finden.

Ungeachtet dessen fielen in der vorliegenden Pilotstudie auch zwei NASH-Patienten mit einem normalen Taillenumfang auf, eine nicht selten beobachtete Tatsache. So verwiesen Karelis et al. u.a. darauf, dass rund 18 % der Bevölkerung normalgewichtig oder nur sehr leicht übergewichtig sind und dabei aber schwere metabolische Erkrankungen haben [93].

Insgesamt sind der BMI und die WC/WHT die bislang besten klinischen Parameter zur Definition von Adipositas, Übergewicht und zentraler Adipositas [30]. In Hinblick auf die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Dissertation scheinen sie auch im Rahmen der Diagnostik der Körperzusammensetzung bei nichtalkoholischer Steatohepatitis noch immer die entscheidenden Werte zu sein. Eine umfassende klinische Evaluation bezüglich des Metabolischen Syndroms sollte in diesem Zusammenhang zur Erzielung einer optimalen Diagnostik jedoch zusätzlich immer erfolgen.

Im Vordergrund der Bestimmung der Körperzusammensetzung standen in der vorliegenden Dissertation die Körperzellmasse, die Fettmasse und die fettfreie Masse. Vergleicht man die vorliegenden Werte der mittels BIA bestimmten Körperzellmasse (BCM) mit den Referenzdaten der Data Input GmbH aus einer großen deutschen Kohorte (187.274 Probanden im Alter von 18-80 Jahre) [94], liegt die BCM jeweils im Normbereich.

Ebenso finden sich nahezu keine Abweichungen zwischen den vorliegenden Werten der Fettmasse (FM) und der fettfreien Masse (FFM) und den Referenzdaten der Data Input GmbH [94]. Lediglich die mittels DXA bestimmte Körperfettmasse ist gegenüber der Fettmasse der BIA-Referenzdatenbank geringfügig erhöht. Vorausgesetzt ist eine geschlechts-, alters- und BMI-gematchte Auswertung. Auch innerhalb der jeweiligen Methode (BIA oder DEXA) zur Bestim-

mung der Körperzusammensetzung fielen keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten oder Kontrollen in der vorliegenden Pilotstudie auf.

Die Hypothese einer relativ verminderten BCM bei übergewichtigen NASH-Patienten im Sinne einer „sarcopenic obesity“ konnte damit in der vorliegenden Pilotstudie nicht belegt werden. Gleichwohl ist eine verminderte BCM ein nicht zu vernachlässigendes Merkmal im Rahmen verschiedener internistischer Erkrankungen. Bei der COPD wird unter anderem empfohlen, die BCM-Bestimmung neben dem BMI in die Routinediagnostik aufzunehmen [95]. Bei der chronischen Herzinsuffizienz scheint die Körperzellmasse ein wichtiger therapeutischer Ansatzpunkt zu sein [32].

Eine weitere Beurteilung der Körperzusammensetzung erfolgte durch anthropometrische Messungen und Berechnung der Armmuskelfläche (AMA) und Armfettfläche (AFA). Signifikante Unterschiede zwischen NASH-Patienten und Probanden traten in der vorliegenden Arbeit nicht auf. Die reduzierte AMA bei zwei männlichen NASH-Patienten gibt Hinweise auf eine verminderte Muskelmasse. Diesem Faktum der verminderten Muskelmasse sollte besonders für etwaige Therapieansätze bei den NASH-Patienten Beachtung geschenkt werden. Denn hier ist neben einer Gewichtsreduktion bei Übergewicht besonders die Steigerung der sportlichen Betätigung zum Muskelaufbau von Bedeutung, da mit dieser eine verbesserte Insulinsensitivität einhergeht. Eine erhöhte AFA, wie sie bei drei der Patienten auffiel, ist als eine zu erwartende Erscheinung bei Übergewicht und Adipositas zu bewerten.

Anhand der Daten in der vorliegenden Dissertation können aber letztendlich weder die mit der Muskelmasse korrelierten Parameter BCM, FFM oder AMA, noch die absolute Fettmasse als aussagekräftige Parameter im Rahmen der NASH-Diagnostik bezeichnet werden.

## 5.6 Bedeutung des Energieumsatzes

Die Ergebnisse der Messung des Ruheenergieumsatzes ( $REE_{Kalo}$ ) von Patienten und Kontrollen glichen sich und zeigten keine pathologischen Auffälligkeiten. Daraus ist abzuleiten, dass Veränderungen des Ruheenergieumsatzes bei übergewichtigen NASH-Patienten gegenüber übergewichtigen Gesunden nicht bevorzugt auftreten. Andere Studien beschreiben allerdings einen signifikant niedrigeren  $REE_{Kalo}$  bei NASH-Patienten gegenüber HCV-Patienten und Gesunden [96] bzw. innerhalb von übergewichtigen NAFLD-Patientengruppen [97]. Die drei von Capristo et al. untersuchten Gruppen (NASH vs. HCV vs. Gesunde) unterschieden sich auch in folgenden wei-

teren Merkmalen: Körpergewicht, FM, viszerale Fettverteilung und Energiezufuhr [96]. Oder die adipösen NAFLD-Patienten unterschieden sich durch das Vorhandensein eines Metabolischen Syndroms [97].

Aus den Daten der eigenen Studie ist aber abzuleiten, dass übergewichtige NASH-Patienten gegenüber übergewichtigen Gesunden, die sich im Körpergewicht, in der Körperzusammensetzung und in den Merkmalen des Metabolischen Syndroms gleichen, keinen veränderten/erniedrigten Ruheenergieumsatz aufweisen. Auch der respiratorische Quotient und die Berechnung der Substratoxidationsraten zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Insofern scheint die Charakterisierung des Energiestoffwechsels mittels indirekter Kalorimetrie kein Parameter zu sein, der zur Differenzierung zwischen NASH-Patienten und Gesunden beiträgt.

Neben der indirekten Kalorimetrie als Goldstandard zur Messung des REEs [63], wurde die seit kurzem verfügbare Methode des SenseWearArmbandes zur Bestimmung des Energieumsatzes in Ruhe eingesetzt. Das SensewearArmband ist ein benutzerfreundliches, praktisches, einfach an- und abzulegendes, bequem zu tragendes Gerät [98] zur Messung des Grundumsatzes und des Energieumsatzes während körperlicher Aktivität.

In der vorliegenden Pilotstudie fiel zwischen  $REE_{Kalo}$  und  $REE_{SW}$  eine starke Korrelation auf. Die Untersuchungen wurden bei allen Patienten und Kontrollen, die in der Studie eine  $REE_{SW}$  Messung bekommen hatten, durchgeführt. Die absolute Differenz betrug  $-224,6 \pm 271,0$ , ohne signifikanten Unterschied. Ein Bland-Altman Diagramm zeigte 94 % der Werte innerhalb von zwei Standardabweichungen der Differenz zwischen beiden Methoden. Dies entspricht einer für klinische Zwecke akzeptablen Übereinstimmung.

Elbelt et al. fanden in einer Probandengruppe mit einer vergleichsweise breiten Spanne von BMI-Werten (Normalgewicht bis Adipositas III) eine sehr starke Korrelation zwischen  $REE_{Kalo}$  und  $REE_{SW}$  [61]. Daneben beschrieben andere Autoren [98-100] eine ausgeprägte Korrelation zwischen  $REE_{Kalo}$  und  $REE_{SW}$  bei Adipösen, Übergewichtigen und Normalgewichtigen. Es ist jedoch bekannt, dass sehr hohe Korrelationen nicht zwingend mit einer sehr guten Übereinstimmung der Meßmethoden einhergehen [98]. So fielen in verschiedenen Studien sowohl eine Unterschätzung des  $REE_{SW}$  (69kcal/d) [98] als auch eine Überschätzung des  $REE_{SW}$  (54kcal/d bei Frauen, 108kcal/d bei Männern) [99] im Vergleich zur indirekten Kalorimetrie auf. Deshalb schlussfolgerten Bertoli et al. [99], dass das SensewearArmband und die indirekte Kalorimetrie keine austauschbaren Methoden bei der Bestimmung des Grundumsatzes, insbesondere nicht bei Adipösen [98], sind. Die Heterogenität dieser Ergebnisse kann möglicherweise durch die Verwendung unterschiedlicher Versionen der InnerView Software bedingt sein [61].

Mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie kann die Aussage vorheriger Arbeiten gestützt werden, dass das SensewearArmband ein für klinische Zwecke ausreichend valides Instrument zur Bestimmung des REEs bei Übergewichtigen ist [61]. Für physiologische Studien gelten Überschätzungen/Unterschätzungen des Armbandes, wie oben erwähnt, sicher als Anwendungsbeschränkung [61].

Die Hauptanwendungsmöglichkeit des SensewearArmbandes liegt jedoch nicht in der Bestimmung des Ruheenergieumsatzes, sondern in der Bestimmung des Gesamtenergieumsatzes in 24 Stunden (TEE) bzw. der Quantifizierung der körperlichen Aktivität. Dabei zeigten sich zwischen den NASH-Patienten und den gesunden Kontrollpersonen in der vorliegenden Studie weder im Gesamtenergieumsatz noch in der Dauer der körperlichen Aktivität signifikante Unterschiede.

Zurückzuführen sind diese Resultate auf ein hinsichtlich der Körperzusammensetzung, des Körpergewichts und der metabolischen Konstitution ähnliches Profil in der Patienten- und der Kontrollgruppe. Der Energieumsatz scheint bezogen auf die Ergebnisse der vorliegenden Pilotstudie somit keine entscheidende Rolle in der Pathogenese einer nichtalkoholischen Steatohepatitis zu spielen.

Auch die Hypothese, dass sich die übergewichtigen NASH-Patienten relativ wenig bewegen, konnte nicht bestätigt werden. Mit einem Energieumsatz von durchschnittlich 630 kcal/d bzw. 520 kcal/d bei körperlicher Aktivität weisen beide Gruppen trotz ihres Übergewichtes einen relativ hohen Energieumsatz auf. Im Allgemeinen wird mit zunehmendem Körpergewicht eine Abnahme der körperlichen Aktivität beschrieben [61].

Als relativ neue Methode zur Messung des Gesamtenergieumsatzes/24h validierten mehrere Studien [98, 100-103] das SensewearArmband unter verschiedenen Bedingungen und in unterschiedlichen Kollektiven, wobei zum Teil widersprüchliche Ergebnisse erzielt wurden. Bei Übergewichtigen [101] und Personen >50 Jahre [65] (wie in der vorliegenden Studie) wurden brauchbare Messergebnisse erzielt. Limitierungen bei der Messung des Gesamtenergieumsatzes pro Tag wurden bisher insbesondere bei bestimmten „extremen“ Personengruppen, wie z.B. Leistungssportlern beschrieben [100]. Papazoglou et al. demonstrierten allerdings auch bei Adipösen eine Überschätzung des Energieumsatzes mit dem SensewearArmband gegenüber der indirekten Kalorimetrie während stärkerer körperlicher Aktivität (Laufband, Stepping, Fahrradergometer) [98]. Jakicic et al. zeigte bei Messungen mit dem SensewearArmband eine signifikante Unterschätzung des Energieumsatzes durch körperliche Aktivität (AEE) während körperlicher Aktivität mit den unteren Extremitäten und eine signifikante Überschätzung des AEE während

Übungen mit den oberen Extremitäten [102]. Diese Einschränkung führte zur Entwicklung von übungsspezifischen Algorithmen für das Armband durch den Hersteller [61, 102].

Die Validität von unterschiedlichen Geräten zur Messung körperlicher Aktivität im Vergleich zur indirekten Kalorimetrie bei normalgewichtigen Gesunden untersuchten Berntsen et al. [103]. Auf der Basis von Berntsens Studie kann keines der vier von ihm getesteten Geräte als ideal bewertet werden [103]. Unter anderem überschätzte das SensewearArmband signifikant den Energieumsatz während moderater intensiver Aktivität (ca. das 3fache des REE) und unterschätzte signifikant den Energieumsatz bei schwerster körperlicher Aktivität (ca. das 9fache des REE) [103].

Die oben aufgeführten Einschränkungen des SensewearArmbandes hinsichtlich der Bestimmung der körperlichen Aktivität beeinflussen durchaus auch die Ergebnisse dieser Arbeit. Es ist anzunehmen, dass in der vorliegenden Arbeit die körperliche Aktivität mit dem SensewearArmband zu einem gewissen Grad überschätzt wurde, denn es handelte sich in beiden Gruppen erstens um übergewichtige Personen [98] und zweitens um Personen, die sich nur sehr wenig oder moderat körperlich betätigten [103]. Somit lässt sich möglicherweise auch erklären, warum die aufgestellte Hypothese einer eher geringen körperlichen Aktivität bei übergewichtigen NASH-Patienten, nicht belegt werden konnte. Allerdings erklärt dies nicht die fehlenden Unterschiede zu den BMI-gematchten Kontrollen.

## 5.7 Bedeutung der Ernährung

In beiden Kollektiven der vorliegenden Pilotstudie fielen eine sehr fett- und eiweißreiche Ernährung sowie eine positive Energiebilanz, wie sie häufig bei Übergewichtigen beobachtet werden, auf. Die hohe Zufuhr an Nahrungsfetten, wie auch in der vorliegenden Arbeit, (Triglyceride, ungesättigte Fettsäuren) begünstigt eine Mehranreicherung von intrahepatischem Fett und führt damit zur Ausbildung einer Steatosis hepatis und später unter Umständen zu einer Steatohepatitis. Ebenso kann der Kohlenhydratanteil der Nahrung zu Fettsäuren umgewandelt und daraus schließlich Triglycerine synthetisiert werden. Bei Tieren wird dies in Form der Kohlenhydratmast (Gänsestopfleber) ausgenutzt. In der vorliegenden Arbeit ist dieser Mechanismus nicht evident, denn die Zufuhr von Nahrungskohlenhydraten war mit 40 % in beiden Gruppen gemessen an den von der DGE empfohlenen Tagesmengen eher zu niedrig [47].

Signifikante Unterschiede traten weder in der Menge der Nahrung noch in der Zusammensetzung hinsichtlich der drei Hauptnährstoffe Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate zwischen beiden

Gruppen der vorliegenden Arbeit auf. Gleiche Beobachtungen beschrieben 2008 die Wissenschaftler um Thuy in einer prospektiven Studie mit 12 NASH-Patienten und 6 Kontrollen [104].

Betrachtet man in der vorliegenden Studie die Absolutwerte der Energiezufuhr pro Tag in beiden Gruppen, muss man von einer deutlichen Unterschätzung („Underreporting“) der Gesamtenergiezufuhr/Tag ausgehen. Denn zieht man die empfohlenen Richtwerte für die durchschnittliche tägliche Energiezufuhr bei einem PAL\* von 1,4\*\* (Quelle: D – A – CH Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr 2000) hinzu (Männer:25-65 Jahre: 2200-2400 kcal/d; Frauen 25-65 Jahre: 1800-1900 kcal/d), zeichnet sich eine deutliche Diskrepanz zu den in dieser Studie erhobenen Werten (NASH-Patienten: 1907 kcal/d; Kontrollen: 2145 kcal/d) ab.

Eine Ursache für dieses Phänomen kann psychologischer Natur sein: Die untersuchten Personen achten, sobald sie schriftlich festhalten, welche Mengen sie täglich an Nahrung zu sich nehmen, sofort auf eine bewusstere Ernährung und nehmen damit weniger oder gesündere Lebensmittel zu sich.

Weiterhin in Erwägung zu ziehen ist, dass aus Scham und Angst vor gesellschaftlicher Kritik wegen ihres Übergewichtes viele Adipöse/ Übergewichtige häufig keine exakten Informationen über ihre Ernährungsweisen und Lebensmittelmengen geben und meist deutlich kleinere Nahrungsmittelmengen angeben, als sie tatsächlich täglich verzehren.

Warum die gesunden Kontrollen und die NASH-Patienten eine ähnliche Kalorienzufuhr pro Tag und auch ähnliche Nährwertrelationen aufweisen, ist damit zu erklären, dass es sich bei beiden Gruppen um übergewichtige Personen mit einem sich ähnelnden metabolischen Profil handelt. Weshalb eine Gruppe jedoch eine Leberwertveränderung entwickelt und die andere nicht, bleibt weiter unklar.

---

\* *physical activity level, durchschnittlicher täglicher Energiebedarf für körperliche Aktivität als Mehrfaches des Grundumsatzes*

\*\* *ausschliesslich sitzende Tätigkeit mit wenig oder keiner anstrengenden Freizeitaktivität*

## **5.8 Bedeutung der Darmpermeabilität und –morphologie**

In der Pathophysiologie der nichtalkoholischen Steatohepatitis werden bei der Entstehung des „second hit“, der aus einer NAFLD eine NASH macht, immer wieder im portalvenösen Blut aus dem Darm anflutende Endotoxine diskutiert [105]. Diese Endotoxinämie könnte einen hepatischen oxidativen Stress triggern und damit Auslöser einer inflammatorischen Reaktion sein. Da-



bei sind eine gestörte intestinale Barrierefunktion und / oder eine bakterielle Fehlbesiedelung des Dünndarms in Frage kommende Mechanismen für die Endotoxinämie.

In der vorliegenden Dissertation wurde die gastroduodenale und intestinale Permeabilität mittels etablierter Testverfahren, basierend auf der renalen Exkretion von oral aufgenommenen Zuckeralkoholen, untersucht. Dabei zeigten sich jedoch keine pathologischen Veränderungen der Mittelwerte oder signifikante Unterschiede zwischen NASH-Patienten und Kontrollpersonen. Auch zeigte die Darmsonographie keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Wanddicke im Kolon. Lediglich im terminalen Ileum hatten die NASH-Patienten im Mittel eine signifikant dickere Wand als die Kontrollen. Auch die Bestimmung von Calprotectin im Stuhl als Indikator für eine intestinale Entzündung zeigte keine Auffälligkeiten. Aus diesen Ergebnissen lässt sich kein starkes Argument für die Hypothese ableiten, dass der Darm den wesentlichen „second hit“ für den Progress von der reinen Fettleber zur NASH darstellt.

Andererseits finden sich in der Literatur in Tierexperimenten bzw. in spezifischen Patientengruppen Hinweise, dass eine Steatohepatitis durchaus durch eine alterierte Darmflora oder –morphologie induziert sein kann. So wird bei nichtalkoholischer Steatohepatitis eine erhöhte Prävalenz der bakteriellen Fehlbesiedelung des Dünndarms (SIBO) beschrieben [43, 106]. Im Jahre 2009 gelang es Miele et al. erstmals beim Menschen im Zusammenhang mit einer bakteriellen Fehlbesiedelung des Dünndarmes auch eine erhöhte Dünndarmpermeabilität (bestimmt mit dem  $^{51}\text{Cr}$ -EDTA-Test) bei NAFLD nachzuweisen [43]. Als Kontrollgruppen dienten in dieser Studie gesunde Probanden und unbehandelte Patienten mit Zöliakie, letztere als Modell für eine massiv gestörte Permeabilität. Dabei zeigte sich zwar eine enge Korrelation zwischen Leberfettgehalt und der SIBO, allerdings nicht zur eigentlichen Inflammation (NASH). Die erhöhte intestinale Permeabilität in dieser Studie wurde zudem mit histologisch nachweisbaren Veränderungen an den Tight Junctions im Duodenum in Verbindung gebracht. Andere Wissenschaftler wiesen bereits vorher bei Tieren (Ratten) eine Störung der intestinalen Schleimhautbarrierefunktion bei NASH nach [44]. Wigg et al. beschrieben in Verbindung mit der SIBO auch erhöhte TNF $\alpha$  Konzentrationen als Marker einer systemischen Inflammation [106].

Farhadi et al. stellten nach der Applikation von Aspirin an NASH-Patienten und Gesunden eine signifikant höhere Permeabilität des gesamten Darmtraktes bei NASH-Patienten fest und leiteten daraus ab, dass dieses Resultat die Annahme der gestörten intestinalen Barrierefunktion durch Endotoxine bei NASH unterstreicht [105].

In einer deutschen Pilotstudie von Thuy et al. wurde die aus Tierexperimenten abgeleitete Hypothese untersucht, dass eine erhöhte Fructoseaufnahme zu einer bakteriellen Fehlbesiedelung und dadurch zu erhöhter Darmpermeabilität führen könnte [104]. Die Autoren fanden bei 12 Patien-

ten mit NAFLD im Vergleich zu 6 gesunden Probanden tatsächlich eine signifikant erhöhte Fructoseaufnahme (bei sonst vergleichbarem Ernährungsverhalten) sowie eine erhöhte Plasmakonzentration an Endotoxin sowie Plasma-Activator-Inhibitor (PAI)-1, ein Marker für die Leberschädigung. Desweiteren wurde eine erhöhte Konzentration des hepatischen TLR4 (toll-like-receptor) beobachtet. Diese Daten führten die Autoren zu dem Schluss, dass eine erhöhte Fructoseaufnahme zu einer erhöhten intestinalen Translokation von bakteriellen Endotoxinen und damit zur Entwicklung einer NASH führen könnte.

Insgesamt zeigen die NASH-Patienten der vorliegenden Pilotstudie keine morphologischen und funktionellen Veränderungen der Darmwand im Sinne eines sich sonographisch darstellenden Darmwandödems oder einer pathologisch veränderten gastroduodenalen oder intestinalen Permeabilität. Vielmehr ist der einzige signifikante Einflussfaktor, der die NASH-Patienten von den BMI-gematchten Kontrollen unterscheidet, die ausgeprägte Insulinresistenz. Die Darmmorphologie und die Darmbarrierefunktion (Darmpermeabilität) scheinen somit keine relevanten Einflussfaktoren für die Entstehung einer NASH zu sein. Die Daten aus der Literatur legen aber den Schluss nahe, dass es andere Untergruppen von Patienten mit Fettleber gibt, bei denen die Inflammation, die letztlich zum histologischen Bild der NASH führt, durch zusätzliche Faktoren wie die bakterielle Fehlbesiedelung und gestörte intestinale Barrierefunktion verursacht wird.

## **5.9 Limitationen der vorliegenden Arbeit, Ausblick**

Die wesentliche Limitation der Arbeit, bedingt durch das umfangreiche Untersuchungsprogramm und die strengen Matchingkriterien, ist die kleine Fallzahl an Patienten und Probanden. Andererseits war die Arbeit als Pilotstudie konzipiert, um mögliche, bislang wenig untersuchte Risikofaktoren für die Entstehung einer NASH zu identifizieren, die ggf. in anschließenden Projekten tiefergehend untersucht werden sollten. Trotz der kleinen Fallzahl ließen sich Daten gewinnen, die einige Hypothesen zur Pathogenese bzw. zu Risikofaktoren für eine NASH als wenig wahrscheinlich erscheinen lassen. So erscheinen weder die Gesamtaufuhr und Relation der Makronährstoffe, noch der Energiestoffwechsel oder die Körperzusammensetzung entscheidende Faktoren, die übergewichtige NASH-Patienten von vergleichbaren lebergesunden Probanden unterscheiden.

Bezüglich diätetischer Faktoren ist nach der Arbeit von Thuy et al. [104] – die allerdings ebenfalls eine kleine Fallzahl aufwies – die Untersuchung von spezifischen Einzel Nährstoffen vielversprechend. Diese wurden in der vorliegenden Arbeit nicht detailliert ausgewertet. Hier wären

weitere Untersuchungen zur Fructoseaufnahme als ein möglicher Auslöser einer bakteriellen Fehlbesiedelung sinnvoll.

Eine weitere Limitation ist der Querschnittscharakter der Studie. Lediglich zu einem Zeitpunkt erfolgte eine Bestandsaufnahme von klinischen, laborchemischen, radiologischen und histologischen Daten der NASH-Patienten und Kontrollen. Zusätzlich interessant wäre eine Verlaufskontrolle der Daten gewesen, insbesondere in Hinblick auf die Frage, ob die bisher gesunden aber übergewichtigen Kontrollpersonen im Laufe der Zeit doch noch eine Insulinresistenz oder eine Steatosis hepatis entwickeln.

Nachdem die wesentlichen Determinanten des mit dem Metabolischen Syndrom einhergehenden westlichen Lebensstils – Bewegungsarmut und Überernährung – zwischen den beiden untersuchten Gruppen keine signifikanten Unterschiede erkennen ließen, wäre es schließlich von großem Interesse nach genetischen Unterschieden zu suchen. Von besonderem Interesse wären hier Genvarianten, die auch für den Diabetes mellitus Typ 2 relevant sind. Allerdings zeigte eine kürzlich publizierte Genom-wide association study (GWAS) an einer sehr großen Kohorte, basierend u.a. auf Daten der Amish-, Family Heart- und Framingham Heart-Studien und dem NASH Clinical Research Network, dass im CT nachweisbare Leberparenchymverfettungen zwar mit Varianten in einer umschriebenen Anzahl von Genloci assoziiert sind. Diese wiederum zeigen aber keinen klaren Zusammenhang mit der Entwicklung zur NASH bzw. Leberfibrose, was für eine größere genetische Heterogenität spricht [107]. Diese Daten sprechen dafür, dass die NASH kein einheitliches Krankheitsbild ist, sondern wahrscheinlich multifaktoriell verursacht wird, wobei der westliche Lebensstil eine wesentliche Rolle spielt. In Hinblick auf die Limitationen dieser und anderer Arbeiten erscheint es daher sinnvoll, ein nationales Register an NASH-Patienten zu etablieren, deren klinischer Phänotyp möglichst umfassend charakterisiert wird (einschließlich einer genauen Analyse des Ernährungs- und Bewegungsverhaltens), um an einer großen Kohorte tiefer gehende Untersuchungen zur Pathogenese der NASH durchführen zu können und ggf. auch neue therapeutische Ansatzpunkte zu finden

## 6 Zusammenfassung

Die nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH) ist die häufigste Lebererkrankung in der westlichen Welt. Ihre Pathogenese wird mit der „two hits“ Hypothese erklärt, bei der auf dem Boden einer Fettleber durch einen weiteren Einflussfaktor eine Inflammation und Fibrose entsteht. Unklar ist, ob Veränderungen im Ernährungsverhalten, im Energiestoffwechsel, in der Körperzusammensetzung oder in der intestinalen Barriere für eine NASH prädestinieren. Ziel der vorliegenden Pilotstudie war es, nach möglichen metabolischen, nutritiven und intestinalen Risikofaktoren für die Entstehung einer NASH zu fahnden.

In die Studie wurden initial 32 Patienten mit Verdacht auf NASH aufgenommen, bei denen seit mindestens 6 Monaten erhöhte Leberwerte bekannt und andere Lebererkrankungen ausgeschlossen waren. 25 gesunde Probanden dienten als Kontrollen, die das komplette Untersuchungsprogramm absolvierten. Sieben Patienten verweigerten eine Leberpunktion, von den 25 punktierten Patienten hatten 15 eine histologisch gesicherte NASH und wurden in die Studie aufgenommen. Der Gruppenvergleich wurde schließlich an 12 Patienten und 12 gematchten gesunden Kontrollen durchgeführt, bei denen sämtliche Untersuchungen durchführbar waren.

Neben anamnestischen und klinischen Daten zu Risikofaktoren der NASH und des Metabolischen Syndroms wurde ein detailliertes 3-Tages-Ernährungsprotokoll erhoben. Der Ernährungszustand wurde anhand von anthropometrischen Parametern (BMI, Armmuskelfläche, Taillenumfang) sowie mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (fettfreie Masse, Körperzellmasse, Fettmasse) und DXA (FFM, Fettmasse) bestimmt. Energieumsatz und Substratoxidationsraten wurden in Ruhe mittels indirekter Kalorimetrie gemessen. Zusätzlich erfolgte die Bestimmung des Energieumsatzes bei körperlicher Aktivität und in 24h mit dem SensewearArmband. Die Labordiagnostik umfasste Leberwerte, Lipidstatus, HOMA-Index, OGTT, Blutbild und die Bestimmung von Calprotectin im Stuhl. Die gastrointestinale Permeabilität wurde durch Saccharose-, Laktulose- und Mannitolausscheidung im 5-h Harn erfasst. Mittels hochauflösender Sonographie wurde die Wanddicke des Kolons und terminalen Ileums gemessen.

Alle Patienten hatten nach der Brunt-Klassifikation eine histologisch milde oder moderate Form der NASH. Die Leberwerte zeigten das typische Muster einer NASH mit moderater (aber jeweils gegenüber den Kontrollen signifikanter) Erhöhung der Transaminasen und AP und deutlicherer Erhöhung der GGT, wobei der deRitis-Quotient im Mittel bei 0.9 lag. Unter den weiteren La-

borwerten war lediglich die Leukozytenzahl bei den NASH-Patienten signifikant höher als bei den gesunden Probanden, lag aber im Mittel immer noch im Normbereich ( $7,3 \pm 2,0$  vs.  $5,2 \pm 1,3$  /nl,  $p < 0.05$ ). Patienten und Kontrollen unterschieden sich nicht signifikant im Risikoprofil für das Metabolische Syndrom, im BMI oder in der waist-to-hip-ratio. Auffällig war jedoch, dass die NASH-Patienten signifikant höhere basale Insulin- und Glucosespiegel und dabei aber auch einen signifikant erhöhten HOMA-Index als Zeichen der Insulinresistenz aufwiesen. Die Analyse der Körperzusammensetzung mittels Anthropometrie, BIA und DXA ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Probanden. Die Ernährungsprotokolle zeigten in beiden Gruppen eine fett- und eiweißreiche Ernährung mit positiver Energiebilanz ohne Unterschiede in der relativen Zufuhr der Makronährstoffe. Auch waren weder die Dauer und Intensität der täglichen körperlichen Aktivität ( $MET > 2,5$ ; Schrittzahl/d) noch der Energieumsatz basal, in Aktivität und in 24 h erkennbar verschieden. Eine erhöhte gastroduodenale und intestinale Permeabilität wurde bei 30 bzw. 20 % der Patienten, aber auch bei jeweils 20 % der gesunden Probanden beobachtet. Die Calprotectinkonzentration im Stuhl als Marker einer intestinalen Inflammation war bei keinem der untersuchten Patienten erhöht. Die sonographische Bestimmung der Darmwanddicke zeigte lediglich für das terminale Ileum signifikant erhöhte Werte im Vergleich zu den Probanden, im Kolon ergaben sich keine Unterschiede.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Dissertation, dass der wesentliche Unterschied zwischen Patienten mit NASH und alters-, geschlechts- und BMI-gematchten lebergesunden Kontrollen im Vorliegen einer Insulinresistenz liegt. Diese war bei der Mehrzahl der Patienten zuvor nicht bekannt. Daher kann die Durchführung eines OGTT oder die Bestimmung des HOMA-Index bei allen Patienten mit unklarer Leberwerterhöhung als obligat empfohlen werden, da sich hier auch unmittelbar therapeutische Optionen ergeben. In diesem Zusammenhang ist auch die Bestimmung des Taillenumfanges bzw. der waist-to-hip-ratio sinnvoll.

Die weiteren Untersuchungen der Arbeit lassen aber keinen klaren Zusammenhang zwischen dem Ernährungsverhalten, der Körperzusammensetzung, dem Energiestoffwechsel oder intestinalen Faktoren erkennen. Im Licht jüngster Kohortenstudien erscheint die NASH daher als ein multifaktorielles Krankheitsbild, bei dem zwar Überernährung und verminderte körperliche Aktivität eine zentrale Rolle spielen, jedoch ähnlich wie beim Diabetes mellitus Typ II wahrscheinlich zusätzliche genetische Faktoren von Bedeutung sind, die eine hepatische Insulinresistenz begünstigen.

## 7 Literaturverzeichnis

- 1 Riley P, O`Donohue J, Crook M. A growing burden: the pathogenesis, investigation and management of non-alcoholic fatty liver disease. *J Clin Pathol* 2007; *60(12)*: 1384-1391.
- 2 Machado M, Cortez-Pinto H. Non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Europ J Gastroenterol Hepatol* 2005; *17*: 823-826.
- 3 Guidorizzi de Siqueira AC, Cotrim HP, Rocha R, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance: importance of risk factors and histological spectrum. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; *17*: 837-841.
- 4 Cortez-Pinto H, Camilo ME. Non-alcoholic fatty liver disease/ non-alcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH): diagnosis and clinical course. *Best practise & Research Clinical Gastroenterology* 2004; *18(6)*: 1089-1104.
- 5 Tarantino G, Saldalamacchia G, Conca P, Arena A. Non-alcoholic fatty liver disease: Further expression of the metabolic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; *22*: 293-303.
- 6 Oh MK, Winn J, Poordad F. Review article: diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; *28*: 503-522.
- 7 Kashyap SR, Diab DL, Baker AR, et al. Triglyceride Levels and Not Adipokine Concentrations Are Closely Related to Severity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Obesity surgery Cohort. *Obesity* 2009; *17(9)*: 1696-1701.
- 8 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, et al. Prevalence of fatty liver disease and its risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol* 2007; *13(47)*: 6419-6424.
- 9 Kallwitz ER, Kumar M, Aggarwal R, et al. Ethnicity and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in an Obesity Clinic: The Impact of Triglycerides. *Dig Dis Sci* 2008; *53*: 1358-1363.
- 10 Guerrero R, Vega GL, Grundy SM, Browning JD. Ethnic Differences in Hepatic Steatosis: An insulin resistance paradox? *Hepatology* 2009; *49(3)*: 791-801.
- 11 Tavares de Almeida I, Cortez-Pinto H, Fidalgo G, Rodrigues D, Camilo ME. Plasma total and free fatty acids composition in human non-alcoholic steatohepatitis. *Clinical Nutrition* 2002; *21 (3)*: 219-223.
- 12 Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, et al. NASH and Insulin Resistance: Insulin Hypersecretion and Specific Association with the Insulin Resistance Syndrome. *Hepatology* 2002; *35*: 373-379.

- 13** David K, Kowdley KV, Unalp A, Kanwal F, Brunt EM, Schwimmer JB; the NASH CRN Research Group. Quality of Life in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Base-line Data from the NASH CRN. *Hepatology* 2009; *49*(6): 1904-1912.
- 14** Gill HK, Wu GY. Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: Effects of weight loss and a review of popular diets. Are low carbohydrate diets the answer? *World J Gastroenterol* 2006; *12*(3): 345-353. 1007-9327.
- 15** Vuppalanchi R, Marri S, Kolwankar D, Considine RV, Chalasani N. Is Adiponectin Involved in the Pathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; *39*(3): 237-242.
- 16** Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, Steatohepatitis and the Metabolic Syndrome. *Hepatology* 2003; *37*(4): 917-923.
- 17** Brönstrup A, Hauner H. 7. Kohlenhydratzufuhr und Prävention des Metabolischen Syndroms. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (Hrsg.). Evidenzbasierte Leitlinie: Kohlenhydratzufuhr und Prävention ausgewählter ernährungsmitbedingter Krankheiten Version 2011, 116-124. <http://www.dge.de/pdf/ws/11-kh/07-Metabolisches%20Syndrom-DGE-Leitlinie-KH.pdf> (Zugriff am 27.11.11).
- 18** Oneta CM, Dufour JF. Diagnostik, Prognose und therapeutische Möglichkeiten der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung. *Schweiz Med Forum* 2003; *37*: 862-8.
- 19** Alberti G, Zimmet P, Shaw J. Worldwide definition for use in clinical practice, in The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome. International Diabetes Federation: Brussels, Belgium, 2006 10-11.
- 20** Cave M, Deaciuc I, Mendez C, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: predisposing factors and the role of nutrition. *J Nutr Biochem* 2007; *18* (3): 184-195.
- 21** Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: a Feature of the Metabolic Syndrome. *Diabetes* 2001; *50*(8): 1844-1850.
- 22** Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: a role for insulin resistance and diabetes. *Hepatology* 2008; *48*(3): 792-798.
- 23** Illouz F, Roulier V, Rod A, et al. Distribution of adipose tissue: Quantification and relationship with hepatic steatosis and vascular profiles of type 2 diabetic patients with metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolism* 2008; *34*: 68-74.
- 24** Malik SM, Gupte PA, De Vera ME, Ahmad J. Liver Transplantation in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis-Related Hepatocellular Carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009; *7*: 800-806.

- 25** Madan K, Batra Y, Gupta SD, et al. Non-alcoholic fatty liver disease may not be a severe disease at presentation among Asian Indians. *World J Gastroenterol* 2006; *12(21)*: 2400-2405.
- 26** Blechacz B, Stremmel W. NASH - Nichtalkoholische Steatohepatitis. *Gastroenterol* 2003; *41*: 77-90.
- 27** Cortez-Pinto H, Carneiro de Moura M, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis: From cell biology to clinical practise. *J Hepatol* 2005; 1-12.
- 28** Pirlich M, Schuetz T, Spachos T, et al. Bioelectrical impedance analysis is a useful bedside technique to assess malnutrition in cirrhotic patients with and without ascites. *Hepatology* 2000; *32(6)*: 1208-1215.
- 29** Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond Insulin Resistance in NASH: TNF $\alpha$  or Adiponectin?. *Hepatology* 2004; *40*: 46-54.
- 30** Rocha R, Cotrim HP, Carvalho FM, Siqueira AC, Braga H, Freitas LA. Body mass index and waist circumference in non-alcoholic fatty liver disease. *J Hum Nutr Diet* 2005; *18(5)*: 365-370.
- 31** Stenholm S, Harris TB, Rantanen T, Visser M, Kritchevsky SB, Ferrucci L. Sarcopenic obesity: definition, cause and consequences. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; *11(6)*: 693-700.
- 32** Rozentryt P, von Haehling S, Lainscak M, et al. The effects of a high-caloric protein-rich oral nutritional supplement in patients with chronic heart failure and cachexia on quality of life, body composition, and inflammation markers: a randomized, double-blind pilot study. *J Cachex Sarcopenia Muscle* 2010; *Sep;1 (1)*: 35-42.
- 33** Pagano G, Soardo G, Pilon C, et al Increased Serum Resistin in Nonalcoholic Fatty Liver disease is related to Liver Disease Severity and not to Insulin Resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; *91(3)*: 1081-1086.
- 34** Bookman ID, Pham J, Guindi M, Heathcote EJ. Distinguishing nonalcoholic steatohepatitis from fatty liver: serum-free fatty acids, insulin resistance, and serum lipoproteins. *Liver Int.* 2006; *26 (5)*: 566-571.
- 35** Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS. Homeostasis model assessment . *Diabetologia* 1985; *28*: 413-419.
- 36** Aller R, De Luis DA, Fernandez L, et al. Influence of insulin resistance and adipokines in the grade of steatosis of nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2008; *53(4)*: 1088-1092.
- 37** Sakurai M, Takamura T, Ota T, et al. Liver steatosis, but not fibrosis, is associated with insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2007; *42(4)*: 312-317.



- 38** Sorrentino P, Terracciano L, D'Angelo S, Ferbo U, Bracigliano A, Vecchione R. Predicting fibrosis worsening in obese patients with NASH through parenchymal fibronectin, HOMA-IR, and hypertension. *Am J Gastroenterol* 2010; *105*(2): 336-244.
- 39** Muñoz LE, Cordero P, Torres L, Saucedo AY, Flores JP, Segura JJ. Adipokines in a group of Mexican patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Hepatol* 2009; *8*(2): 123-128.
- 40** Shimada M, Kawahara H, Ozaki K, et al. Usefulness of a combined evaluation of the serum adiponectin level, HOMA-IR, and serum type IV collagen 7S level to predict the early stage of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2007; *102*(9): 1931-1938.
- 41** Krawczyk K, Szczesniak P, Kumor A, et al. Adipohormones as prognostic markers in patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *J Physiol Pharmacol.* 2009; *60*: 71-75.
- 42** Chalasani N, Crabb DW, Cummings OW, et al. Does Leptin play a role in the Pathogenesis of Human Nonalcoholic Steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 2003; *98*(12): 2771-2776.
- 43** Miele L, Valenza V, La Torre G, et al. Increased Intestinal Permeability and Tight Junction Alterations in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology* 2009; *49*: 1877-1887.
- 44** Li S, Wu WC, He CY, Han Z, Jin DY, Wang L. Change of intestinal mucosa barrier function in the progress of non-alcoholic steatohepatitis in rats. *World J Gastroenterol* 2008; *14*(20): 3254-3258.
- 45** Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007; *50*(16): 1561-1569.
- 46** Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999; *94*(9): 2467-2474.
- 47** Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Österreichische Gesellschaft für Ernährung, Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung, Schweizerische Vereinigung für Ernährung (Hrsg.). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Umschau Braus, Frankfurt am Main, 2000
- 48** Burger M, Mesink G. Alkoholkonsum in Deutschland. Robert-Koch-Institut (Hrsg.): Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Bundes-Gesundheitssurvey: Alkohol. Konsumverhalten in Deutschland Berlin, 2003: 3-15.
- 49** Weltgesundheitsorganisation(WHO). Body Mass Index (BMI). Nutrition and food security. 2007 <http://www.euro.who.int/en/what-we-do/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi> (Zugriff am 27.11.2011)
- 50** Hauner et al. Prävention und Therapie der Adipositas. Deutsche Adipositas Gesellschaft, Deutsche Diabetes-Gesellschaft, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Deutsche Gesell-

schaft für Ernährungsmedizin : Evidenzbasierte Leitlinie zur Prävention und Therapie der Adipositas 2007: 1-29.

- 51** Buffa R, Floris G, Martin E. Assessment of nutritional status in free-living elderly individuals by bioelectrical impedance vector analysis: *Nutrition*. 2009; *1*: 3-5.
- 52** Baumgartner RN, Ross R, Heymsfield SB. Does adipose tissue influence bioelectric impedance in obese men and women? *J Appl Physiol* 1998; *84(1)*: 257-262.
- 53** Durnin JV, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974; *32(1)*: 77-97.
- 54** Gurney JM, Jelliffe DB. Arm anthropometry in nutritional assessment: nomogram for rapid calculation of muscle circumference and cross-sectional muscle and fat areas. *Am J Clin Nutr* 1973; *26(9)*: 912-915.
- 55** Pirlich M, Schwenk A, Müller MJ, et al. DGEM-Leitlinie Enterale Ernährung: Ernährungsstatus. *Aktuelle Ernährungsmedizin* 2003; *28*: 10-25.
- 56** Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981; *34*: 2540-2545
- 57** Pirlich M, PM, Lochs H. Bioelektrische Impedanzanalyse: Fehlerquellen und methodische Grenzen bei der klinischen Anwendung zur Analyse der Körperzusammensetzung. *Aktuelle Ernährungsmedizin* 1999; *24*: 81-90.
- 58** Kushner RF, Schoeller DA Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis. *Am J Clin Nutr* 1986; *44(3)*: 417-424.
- 69** Lautz HU, Selberg O, Körber J, Bürger M, Müller MJ. Protein-calorie malnutrition in liver cirrhosis. *Clin Investig* 1992; *70(6)*: 478-486.
- 60** Deutsche Gesellschaft für Ernährung. Neue Richtwerte der DGE für die Energiezufuhr orientieren sich an der körperlichen Aktivität. DGE - 13/2000  
<http://www.dge.de/modules.php?name=News&file=article&sid=102> (Zugriff am 29.11.2011)
- 61** Elbelt U, Schuetz T, Hoffmann I, Pirlich M, Strasburger CJ, Lochs H. Differences of energy expenditure and physical activity patterns in subjects with various degrees of obesity. *Clinical Nutrition* 2010; *29*: 766-772.
- 62** Harris JA, Benedict FG. A biometric study of human basal metabolism: Nutrition Laboratory and Station for Experimental Evolution, Carnegie Institution of Washington. 1918; 1919 370-373

- 63** Müller MJ, Selberg O, Süttmann U, Weimann A, Kruse ER. Schätzung und Messung des Energieverbrauchs: Methoden und Stellenwert in der klinischen Diagnostik. *Intensivmedizinische Notfallmedizin* 1992; *29(8)*: 411-26.
- 64** Takala J, Keinänen O, Väisänen P, Kari A. Measurement of gas exchange in intensive care: laboratory and clinical validation of a new device. *Crit Care Med* 1989; *17(10)*: 1041-1047
- 65** Müller C, Winter C, Rosenbaum D. Aktuelle objektive Messverfahren zur Erfassung körperlicher Aktivität im Vergleich zu subjektiven Erhebungsmethoden. *Dt Zeitschr Sportmed* 2010; *61(1)*: 11-18.
- 66** Landig J, Erhardt JG, Bode JC, Bode C. Validation and comparison of two computerized methods of obtaining a diet history. *Clin Nutr* 1998; *17(3)*: 113-117.
- 67** American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2004; *27(1)*: S5-S8.
- 68** Wiegand J, Mössner J, Tillmann HL. Nichtalkoholische Fettleber und Steatohepatitis. *Der Internist* 2007; *48(2)*: Springer Medizin Verlag Berlin/Heidelberg: 154-163.
- 69** Tannapfel A, Denk H, Dienes HP, et al. Histopathologische Diagnose der nichtalkoholischen und alkoholischen Fettlebererkrankung. *Der Pathologe* 2010; Springer Verlag Berlin/Heidelberg
- 70** Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis* 2001; *21(1)*: 3-16.
- 71** Buhner S, Reese I, Kuehl F, Lochs H, Zuberbier T. Pseudoallergic reactions in chronic urticaria are associated with altered gastroduodenal permeability. *Allergy* 2004; *59*: 1118-1123.
- 72** Buhner S, Buning C, Genschel J, et al. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Chron's disease: role of CARD15 3020insC mutation? *Gut* 2006; *55*: 342-347.
- 73** Bland JM, Altman DG. Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 1995; *21*: 1085-1087.
- 74** Bogdanova K, Pocztakova H, Uherkova L, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) - a novel common aspect of the metabolic syndrome. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006; *150(1)*: 101-104.
- 75** Pagano G, Pacini G, Musso G, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis, Insulin Resistance, and Metabolic Syndrome: Further Evidence for Etiologic Association. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; *91(3)*: 1081-1086.

- 76** Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and Risk Factors for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Dionysos Nutrition and Liver Study. *Hepatology* 2005; *42*: 44-52.
- 77** Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, et al. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology* 2010; *52*(3): 904-912.
- 78** Lohsoonthorn V, Dhanamun B, Williams MA. Prevalence of metabolic syndrome and its relationship to white blood cell count in a population of Thai men and women receiving routine health examinations. *Am J Hypertens* 2006; *19*(4): 339-345.
- 79** Tsai JC, Sheu Sh, Chiu HC, et al. Association of peripheral total and differential leukocyte counts with metabolic syndrome and risk of ischemic cardiovascular diseases in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2007; *23*(2): 111-118.
- 80** Lee YJ, Lee HR, Shim JY, Moon BS, Lee JH, Kim JK. Relationship between white blood cell count and nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2010; *42*(12): 888-894.
- 81** Targher G, Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; *19*: 1235-240
- 82** Targher G, Tessari R, Bertolini L, et al. Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease and its Association with Cardiovascular Disease among Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* 2007; *30*: 1212-1218.
- 83** Lu H, Zeng L, Liang B, Shu X, Xie D. High prevalence of coronary heart disease in type 2 diabetic patients with non-alcoholic fatty liver disease *Arch Med Res* 2009; *40*(7): 571-575.
- 84** McKimmie RL, Daniel KR, Carr JJ, et al. Hepatic steatosis and subclinical cardiovascular disease in a cohort enriched for type 2 diabetes: The Diabetes Heart Study. *Am J Gastroenterol* 2008; *103*(12): 3029-3035.
- 85** Goessling W, Massaro JM, Vasan RS, D'Agostino RB Sr, Ellison RC, Fox CS. Aminotransferase levels and 20-year risk of metabolic syndrome, diabetes and cardiovascular disease. *Gastroenterology* 2008; *135*(6): 1935-1944.
- 86** Messier V, Karelis AD, Robillard ME, et al. Metabolically healthy but obese individuals: relationship with hepatic enzymes. *Metabolism* 2010; *59*(1): 20-24.
- 87** Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; *49*: 450-465.

- 88** Hemmelmann C, Brose S, Vens M., Hebebrand J, Ziegler A. Percentiles of body mass index of 18-80-year-old German adults based on data from the Second National Nutrition Survey. *Dtsch Med Wochenschr* 2010; *135(17)*: 848-852.
- 89** Indulekha K, Anjana RM, Surendar J, Mohan V. Association of visceral and subcutaneous fat with glucose intolerance, insulin resistance and adipocytokines and inflammatory markers in Asian Indians (CURES-113). *Clin Biochem* 2011; *44(4)*: 281-287.
- 90** Liu J, Fox CS, Hickson DA, et al. Impact of abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue on cardiometabolic risk factors: the Jackson Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; *95(12)*: 5419-5426.
- 91** Katzmarzyk PT, Janssen I, Ross R, Church TS, Blair SN. The Importance of Waist Circumference in the Definition of Metabolic Syndrome. *Diabetes Care* 2006; *29 (2)*: 404-409.
- 92** Stefan N, Kantartzis K, Machann J, et al. Identification and Characterization of Metabolically Benign Obesity in Humans. *Arch Intern Med* 2008; *168(15)*: 1609-1616.
- 93** Karelis AD, St-Pierre DH, Conus F, Rabasa-Lhoret R, Poehlman ET. Metabolic and Body Composition Factors in Subgroups of Obesity: What do we know? *J Clin Endocrinol Metab* 2004; *89(6)*: 2569-2575.
- 94** Data Input GmbH. Statistische Vergleichswerte gestaffelt nach BMI und Alter. Data Input GmbH NutriPlus Gebrauchsanleitung für Software zur Bestimmung von Körperzusammensetzung und Ernährungszustand aus B.I.A.-Messungen 2005; 11.
- 95** Vestbo J, Prescott E, Almdal T, et al. Body Mass, Fat-Free Body Mass, and Prognosis in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease from Random Population Sample. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; *173*: 79-83.
- 96** Capristo E, Miele L, Forgione A, et al. Nutritional aspects in patients with non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2005; *9(5)*: 265-268.
- 97** Tarantino G, Marra M, Contaldo F, Pasanisi F. Basal metabolic rate in morbidly obese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Invest Med* 2008; *31(1)*: E24-E29.
- 98** Papazoglou D, Augello G, Tagliaferri M, et al. Evaluation of a Multisensor Armband in Estimating Energy Expenditure in Obese Individuals. *Obesity* 2006; *14(12)*: 2217-2223.
- 99** Bertoli S, Posata A, Battezzati A, Spadafranca A, Testolin G, Bedogni G. Poor agreement between a portable armband and indirect calorimetry in the assessment of resting energy expenditure. *Clin Nutr* 2008; *27(2)*: 307-310.
- 100** St-Onge M, Mignault D, Allison DB, Rabasa-Lhoret R. Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults. *Am J Clin Nutr* 2007; *85*: 742-749.

- 101** Mignault D, St-Onge M, Karelis AD, Allison DB, Rabasa-Lhoret R. Evaluation of the portable HealthWear Armband. *Diabetes Care* 2005; *28(1)*: 225-227.
- 102** Jakicic JM, Marcus M, Gallagher KI, et al. Evaluation of the SenseWear Pro Armband™ to Assess Energy Expenditure during Exercise. *Med Sci in Sports Exerc* 2004; *36*: 897-904.
- 103** Berntsen S, Hageberg R, Aandstad A, et al. Validity of physical activity monitors in adults participating in free-living activities. *Br J Sports Med* 2010; *44*: 657-664.
- 104** Thuy S, Ladurner R, Volynets V, et al. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Humans is Associated with Increased Plasma Endotoxin and Plasminogen Activator Inhibitor 1 Concentrations and with Fructose Intake. *J Nutr* 2008; *138*: 1452-1455.
- 105** Farhadi A, Gundlapalli S, Shaikh M, et al. Susceptibility to gut leakiness: a possible mechanism for endotoxaemia in non-alcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2008; *28(7)*: 1026-1033.
- 106** Wigg AJ, Roberts-Thomson IC, Dymock RB, Mc Carthy PJ, Grose RH, Cummins AG. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor alpha in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut* 2001; *48(2)*: 206-211.
- 107** Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, et al. Genome-Wide Association Analysis Identifies Variants Associated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease That Have Distinct Effects on Metabolic Traits. *PLoS Genetics* 2011; *7(3)*: e1001324.

## 8 Danksagung

Mein herzlicher Dank gebührt folgenden Personen und Institutionen, ohne die diese Arbeit nicht hätte vollendet werden können:

Herrn Prof. Dr. med. Matthias Pirlich für die Vergabe des Themas und seine wissenschaftliche Betreuung, die mich mit ständiger Diskussionsbereitschaft, Ratschlägen und konstruktiver Kritik immer wieder motiviert hat.

Frau Dr. rer. nat. Tatjana Schütz für ihre unschätzbare freundschaftliche Hilfe, ihren unermüdlichen großzügigen Einsatz bei der Vertiefung einer wissenschaftlichen Denkweise, ihre ständige Unterstützung in sachlichen und organisatorischen Fragen sowie für die Durchführung einer fachlichen Ernährungsberatung für die Patienten und Probanden.

Herrn Prof. Dr. med. Herbert Lochs für die Protektion der Abläufe als Direktor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Allen Ärztinnen, Ärzten, Schwestern und Pflegern der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin für ihre Kooperation und organisatorische Hilfsbereitschaft.

Herrn PD Dr. med. Jürgen Bauditz sowie den Schwestern und Pflegern der Sonographieabteilung der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, Charité – Universitätsmedizin, Berlin für die Durchführung der Leberpunktionen und Sonographien.

Herrn Dr. med. Koch und dem Institut für Pathologie der Charité - Universitätsmedizin Berlin für die Befundung und Beurteilung der Lebergewebeproben.

Frau Dr. rer. nat. Sabine Bühner, Frau Martina Werich und dem endokrinologischen Stoffwechsellabor der Medizinischen Klinik mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin für die Durchführung des Permeabilitätstests und der Calprotectinmessungen.

Frau Dr. med. Anja Sandek und der Medizinischen Klinik für Herz-, Kreislauf- und Gefäßmedizin (Forschungsbereich: angewandte Kachexieforschung, Herzinsuffizienz) Charité - Universitätsmedizin Berlin für die DXA-Messungen.

Dem Forschungslabor für Klinische Endokrinologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin für die Bestimmung von Insulin.

Allen Patienten und Probanden, ohne deren Mitarbeit bei den Untersuchungen diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Danken möchte ich noch meinem Mann Sergio Leiva Castro und meinen Eltern Dr. Lothar und Margarete Hoffmann für ihre liebevolle und unentwegte Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.



## **9 Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Berlin, den

Isabelle Franziska Hoffmann

## 10 Erklärung

Ich, Isabelle Franziska Hoffmann, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Pathophysiologie der nichtalkoholischen Steatohepatitis – Eine Pilotstudie zur Bedeutung nutritiver, metabolischer und intestinaler Faktoren“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, den

Isabelle Franziska Hoffmann

## 11 Publikationsliste

### Publikationen

Elbelt U, Schuetz T, **Hoffmann I**, Pirlich M, Strasburger CJ, Lochs H

**Differences of energy expenditure and physical activity patterns in subjects with various degrees of obesity.**

*Clinical Nutrition* 2010, 29(6):766-772

### Kongreßbeiträge und Abstracts

**Hoffmann I**, Schuetz T, Lochs H, Pirlich M

**Körperliche Aktivität und Nahrungsaufnahme von Patienten mit Nichtalkoholischer Steatohepatitis im Vergleich zu BMI-gematchten Kontrollpersonen**

*Z Gastroenterol* 2008; 46(9): 1042

Kongress: 63. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) mit Sektion für Gastroenterologische Endoskopie und 2. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaften der Deutschen Gesellschaft für Allgemein- und Viszeralchirurgie (DGAV), 1.-4.10.2008, Berlin

**Hoffmann I**, Schuetz T, Lochs H, Pirlich M

**Physical Activity and Dietary Intake in Patients with Non-alcoholic Steatohepatitis (NASH) compared to Healthy Controls**

*Clinical Nutrition Supplements* 2008; 3: 86

30. ESPEN Kongress, 13.-16. September 2008, Florenz; Italien

**Hoffmann I**, Schuetz T, Lochs H, Pirlich M

**Körperliche Aktivität und Nahrungsaufnahme von Patienten mit Nichtalkoholischer Steatohepatitis im Vergleich zu BMI-gematchten Kontrollpersonen**

*Aktuel Ernaehrungsmed* 2008; 32; 141.

7. Dreiländertagung der DGEM, AKE, GESKES, 12.-14.-Juni 2008, Hamburg

Schuetz T, **Hoffmann I**, Freudenreich M, Lochs H, Pirlich M

**Is the SensewearArmband valid for Measuring Resting Energy Expenditure?**

*ESPEN Abstract Book 2006: 146.*

28. ESPEN Kongress, 19.-22. Oktober 2006, Istanbul, Türkei

Schuetz T, **Hoffmann I**, Freudenreich M, Lochs H, Pirlich M

**Ist das SensewearArmband zur Messung des Ruheenergieumsatzes geeignet?**

*Aktuel Ernaehrungsmed 2006; 31; 139*

5. Dreiländertagung der DGEM, AKE, GESKES, 1.-3.-Juni 2006, Berlin