AUS DER KLINIK FÜR INNERE MEDIZIN II - GASTROENTEROLOGIE UND ENDOKRINOLOGIE AM UNIVERSITÄTSKLINIKUM DES SAARLANDES, HOMBURG/SAAR
DIREKTOR: PROF. SCHATTENBERG

Fettlebererkrankungen bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen: Prospektive Untersuchung der Inzidenz und spezieller Risikofaktoren

---

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät des Saarlandes
2024

Vorgelegt von Michael Schuster geboren am 17.06.1976 in Miltenberg

I. Inhaltsverzeichnis

I. Inhaltsverzeichnis II
II. Verzeichnis der Abkürzungen 4
III. Abbildungsverzeichnis 7
IV. Tabellenverzeichnis 8
V. Zusammenfassung auf Englisch 9
VI. Zusammenfassung auf Deutsch 10
1. Einleitung 11
1.1. Die steatotische Lebererkrankung (SLD) 11
1.1.1 Genetische Determinanten für das Vorliegen einer Steatose 13
1.2. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen 14
1.2.1 Genetische Determinanten für das Vorliegen einer CED 15
1.2.2 Mikrobielle Determinanten für das Vorliegen einer CED 16
1.3. Gemeinsamkeiten der SLD / MASLD und CED 17
2. Problemstellung 18
2.1. Fragestellungen 18
3. Material und Methoden 19
3.1 Studiendesign und Patientenkollektiv 19
3.2 Fragebogen 19
3.3 Funktionsdiagnostik 19
3.3.1. Elastographie (FibroScan ©) 19
3.3.2. Bioelektrische Impedanzanalyse 21
3.4 Labordiagnostik 22
3.5 Genetische Diagnostik 22
3.5.1 DNA-Extraktion 22
3.5.2 Genomtypisierung 23
3.6 Statistische Analyse 25
4. Ergebnisse 27
4.1 Patientenkollektiv 27
4.1.1 Allgemeine Patientencharakteristika 27
4.1.2 Leber- Elastographie (FibroScan®) 29
4.1.3 Bioimpedanzmessung (BIA) 31
4.2 Laborchemische Analytik 32
4.2.1 Leberspezifische Laborparameter 32
4.2.2 Entzündungsspezifische Laborparameter 32
4.2.3 Hormone, Spurenelemente und Vitamine 33
4.2.4 Parameter des Fettstoffwechsels 33
4.3 Genetische Analysen 33
4.3.1 *PNPLA3* 33
4.3.2 *TM6SF2* 34
4.3.3 *MBOAT7* 35
4.3.4 *NOD2* 35
4.3.4.1 *NOD2* c.3020iC 35
4.3.4.2 *NOD2* p.R702W 35
4.3.4.3 *NOD2* p.G90R 35

4.4 Leberspezifische Parameter in Korrelation zur Genetik 36
4.5 Lipoproteine in Korrelation zur Genetik 37
4.6 Multivariate Analyse 38
5. Diskussion 40
5.1 SLD/MASLD 40
5.2 SLD bei CED-Patienten 41
5.3 Rolle genetischer Mutationen 45
5.4 Laboranalytik 49
5.5 Funktionelle Untersuchungen (Elastographie/BIA-Messung) 51
5.6 Einschränkungen der Studie 52
5.7 Fazit und Ausblick 53
6. Literaturverzeichnis: 54
7. Publikationen: 62
8. Danksagung 63
9. Lebenslauf: 64
10. Anhang: 65

II. Verzeichnis der Abkürzungen

°C	Grad Celsius
µM	mikromolar
5-HT	5-hydroxytryptamine (Serotonin)
6-MMP	6-Methyl-Mercaptopurin
6-TGN	6-Thioguanin-Nucleotide
AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
AIDS	Acquired immunodeficiency syndrome
AK	Antikörper
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AMPs	antimicrobial peptides
ANS	Autonomes Nervensystem
AP	Alkalischen Phosphatase
AP 1	activator protein-1
aq. dest.	destilliertes Wasser
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ASH	Alkoholische Steatohepatitis
AUC	Area Under the Curve
AZA	Azathioprin
BIA	Bioelektrische Impedanzmessung
Bili	Bilirubin
BMC	Body Cell Mass (Körperzellmasse)
BMI	Body-Mass Index
CAP	Controlled attenuation parameter
CED	Chronisch entzündliche Darmerkrankungen
CK	Kreatinin Kinase
CMV	Zytomegalie Virus
CRP	C-reaktives Protein
CU	Colitis ulcerosa
dB	Dezibel
EASL	European Association for the Study of the Liver
EBV	Epstein Barr Virus
ECW	extracellular water / extrazelluläres Wasser
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EIM	Extraintestinale Manifestation
ENS	Enterisches Nervensystem
FAM	6-Carboxyfluorescein
FFM	fettfreie Masse
FIB-4	Fibrose-Score FIB4-Index
FLD	Fettlebererkrankung
FM	Fettmasse
FMI	Fettmasse-Index
FRET	Förster-Resonanzenergietransfer
FSME	Frühsommer-Meningoenzephalitis
fT3	freies Triiodthyronin
fT4	freies Thyroxin
GGT	γ-Glutamyltransferase
GLDH	Glutamat-Dehydrogenase
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GWAS	Genome-wide association study
Hb	Hämoglobin

HDL	High Density Lipoprotein
HKT	Hämatokrit
HSI	Hepatic Steatosis Index
HSV	Herpes Simplex Virus
I	Stromstärke
ICW	intracellular water / intrazelluläres Wasser
INR	International Normalized Ratio
KI	Konfidenzintervall
kPa	Kilopascal
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	Low Density Lipoprotein
LKM	Liver-Kidney-Mikrosomen-Antikörper
MAF	Minor allele frequency
MAMP	microbial-associated molecular patterns
MAP	mitogen-activated protein
MASLD	Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease
MBOT7	membrane-bound O-acyltransferase domain-containing protein 7
MC	Morbus Crohn
MCH	mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration
MDP	Muramyl-Dipeptide
MPV	mittleres Thrombozyten Volumen
MRI-PDFF	MRT proton density fat-fraction
MRT	Magnetresonanztomographie
MTX	Methotrexat
NAFL	non-alcoholic fatty liver (Nicht-alkoholische Fettleber)
NAFLD	non-alcoholic fatty liver disease (Nicht-alkoholische Fettleber Erkrankung)
NLRs	nucleotide oligomerization domains like receptors
PAMPs	pathogen-associated molecular patterns
PCR	polymerase chain reaction
PCT	Procalcitonin
PGN	Peptidoglycane
PNPLA3	patatin-like phospholipase domain-containing protein 3
PSC	primär sklerosierende Cholangitis
PTT	Partielle Thromboplastinzeit
PUFA	polyunsaturated fatty acids
puris.	Purissimum (das reinste)
R	Widerstand
RDW	Red Blood Cell Distribution Width
REE	resting energy expenditure / Ruheenergieverbrauch
sig	signifikant
ROC	Receiver Operating Characteristic
rpm	revolutions per minute
SCFAs	short chain fatty acids (Kurzkettige Fettsäuren)
SD	standard deviation (Standardabweichung)
SLA	Soluble Liver Antigen
SLD	Steatotic Liver Disease
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
Tac	Tacrolimus
TBW	total body water / Gesamtkörperwasser
TE	Transiente Elastographie
TEE	Total energy expenditure / Gesamtenergieverbrauch
TLR	Toll-like-Rezeptoren
TM6SF2	Transmembrane 6 Superfamily Member 2 Gen

TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
U	Spannungsverlauf
VIC	2’-chloro-7’-phenyl-1,4-dichloro-6-carboxyfluorescein
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
VZV	Varizella-Zoster-Virus
Xc	Reaktanz
Z	Impedanz
ZNS	Zentrales Nervensystem

III. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1. Ätiologie der SLD bzw. MASLD. 12
Abbildung 2. Ätiologie der CED. 14
Abbildung 3. Prinzip des TaqMan Assays. 24
Abbildung 4. Abgrenzung der Allelverteilung im TaqMan Assays. 25
Abbildung 5. Studienablauf Diagramm. 27
Abbildung 6. Normalverteilung der CAP-Werte. 29
Abbildung 7. Ethikantrag. 65
Abbildung 8. Nomenklatur der steatotischen Lebererkrankungen. 66

IV. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Analysierte Genloci mit der entsprechenden SNP ID 23
Tabelle 2 Allgemeine Patientencharakteristika 28
Tabelle 3 Basischarakteristika der Patienten ohne und mit SLD (sig.). 30
Tabelle 4 Bioimpedanzmessung der Probanden ohne und mit SLD (sig.). 31
Tabelle 5 Klinisch-chemischen Analytik der Probanden ohne und mit SLD (sig.) 32
Tabelle 6 Verteilung der untersuchten Mutationen bei MC-Patienten (sig.). 34
Tabelle 7 Ergebnisse der bivariablen Regressionsanalyse für das Vorliegen einer SLD. 38
Tabelle 8 Vorwärts- (a) sowie schrittweisen Rückwärts-Selektion (b). 39
Tabelle 9 Finale logistischen Regressionsanalyse. 39
Tabelle 10 Reaktionsansatz der PCR-Messungen. 67
Tabelle 11 Eingesetzte Sonden. 68
Tabelle 12 Basischarakteristika der Patienten ohne und mit SLD (alle). 69
Tabelle 13 MW und SD der CAP- und E-Werte in Abhängigkeit der Mutationen. 70
Tabelle 14 Bioimpedanzmessung der Probanden ohne und mit SLD (alle) 71
Tabelle 15 Klinisch-chemischen Analytik der Patienten mit und ohne SLD (alle). 73
Tabelle 16 Verteilung der untersuchten Mutationen. 74
Tabelle 17 Verteilung der untersuchten Mutationen (MC). 75
Tabelle 18 Leberwerte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation. 76
Tabelle 19 Leberwerte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation (MC). 77
Tabelle 20 Parameter des Fettstoffwechsels in Abhängigkeit der vorliegenden Mut. 78
Tabelle 21 Parameter des Fettstoffwechsels in Abhängigkeit der vorliegenden Mut.(MC) 79

V. Zusammenfassung auf Englisch

Introduction: Chronic inflammatory bowel diseases (IBD), such as Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), are associated with multiple systemic manifestations. The aim of this study was to evaluate liver disease in patients with IBD with the special focus on fatty liver disease, currently defined as steatotic liver disease (SLD) and specific risk factors for progressive liver disease, including genetic variants.

Methods: This study is a prospective cross-sectional analysis of patients who were treated at the IBD outpatient clinic at Saarland University Hospital between April 2014 and July 2015. In all recruited patients, we collected data on medical history, routine laboratory tests, and hepatopathy screening, as well as bioelectrical impedance analysis (BIA). We performed transient elastography to evaluate liver status and liver steatosis was defined as controlled attenuation parameter (CAP) values of ≥288 db/m. Patients with cirrhosis or liver diseases other than fatty liver were excluded. The known genetic risk variants, for progressive liver steatosis and fibrosis, namely the *PNPLA3* (p.I148M), *TM6SF2* (p.E167K), *MBOAT7* (p.G17E), and for CD, NOD2 (c.3020iC, p.R702W, p.G90R) were genotyped using TaqMan assays.

Results: A total of 102 patients with IBD were recruited. After excluding 15 patients due to chronic liver diseases other than fatty liver (n = 5), liver cirrhosis (n = 2), or missing clinical data (n = 8), 87 participants, 57% of whom were male, remained in the final analysis. The majority of patients, 70 (80.5%), had CD. The mean CAP was 248.5 (± 61.1) db/m, and mean liver stiffness was 5.2 (± 1.8) kPA. SLD was detected in 23 (26.4%) of the patients. Regression analyses revealed significant (all $P < 0.05$) associations between SLD and serum ASAT, total cholesterol, and triglycerides in the entire cohort. The *PNPLA3* polymorphisms increased the risk of developing SLD in patients with Crohn's disease (OR = 3.28, P = 0.036). Patients carrying the *PNPLA3* variant had also a significantly higher serum AP (P = 0.021). The mutation in *NOD2* (c.3020iC) was associated with elevated GGT (P = 0024) and lower HDL (P = 0.049).

Conclusion: SLD is common among patients with IBD, and this phenotype might be modulated by genetic variants. Inclusion of genetic analyses in the clinical work-up of the IBD patients might help to detect ones that are at risk of progressive liver disease. Larger cohorts are, however, needed to precisely define the role of SLD-associated polymorphisms in the context of IBD.

VI. Zusammenfassung auf Deutsch

Einleitung: Chronisch entzündliche Darmerkrankungen (CED) wie der Morbus Chron (MC) und die Colitis ulcerosa (CU) gehen mit vielfältigen systemischen Manifestationen einher. Ziel dieser Studie war es, Lebererkrankung bei Patienten mit CED zu untersuchen. Der Schwerpunkt lag auf dem Nachweis einer Steatose, die derzeit als steatotische Lebererkrankung (SLD) definiert ist, sowie auf spezifischen Risikofaktoren für eine fortschreitende Lebererkrankung, einschließlich genetischer Varianten.

Methoden: Bei der Studie handelt es sich um eine prospektive Querschnittsanalyse von Patienten, die zwischen April 2014 und Juli 2015 in der CED-Ambulanz des Universitätsklinikums des Saarlandes betreut wurden. Die Datenerhebung umfasste eine strukturierte Anamnese, eine umfangreiche Labordiagnostik, ein Hepatopathie-Screening sowie eine bioelektrische Impedanzanalyse (BIA). Weiter führten wir eine transiente Elastographie durch, um den Leberstatus zu bewerten. Eine Steatose wurde beim Vorliegen eines CAP- (controlled attenuation parameter-) Wertes von ≥288 db/m definiert. Patienten mit dem Bild einer Zirrhose oder einer anderen definierten Lebererkrankung wurden ausgeschlossen. Die bekannten genetischen Risikovarianten für eine progressive Lebersteatose und Fibrose, namentlich *PNPLA3* (p.I148M), *TM6SF2* (p.E167K), *MBOAT7* (p.G17E) und für MC, *NOD2* (c.3020iC, p.R702W, p.G90R) wurden mit TaqMan-Assays genotypisiert.

Ergebnisse: Insgesamt wurden 102 Teilnehmer in die Studie aufgenommen. Nach dem Ausschluss von 15 Patienten aufgrund von chronischen Lebererkrankungen (n = 5), einer Leberzirrhose (n = 2) oder fehlenden klinischen Daten (n = 8) verblieben 87 Teilnehmer, von denen 57 % männlich waren, in der endgültigen Analyse. Die Mehrheit der Patienten, 70 (80,5 %), hatte einen MC. Der mittlere CAP betrug 248,5 (± 61,1) db/m, und die mittlere Lebersteifigkeit lag bei 5,2 (± 1,8) kPA. Eine SLD wurde bei 23 (26,4 %) Patienten festgestellt. Regressionsanalysen ergaben signifikante (alle $P < 0,05$) Zusammenhänge bezüglich des Vorliegens einer SLD und der ASAT im Serum sowie dem Cholesterin und den Triglyceriden in der gesamten Kohorte. Die *PNPLA3* Polymorphismus erhöhten das Risiko der Entwicklung einer SLD bei Patienten mit Morbus Crohn (OR = 3,28, $P = 0,036$). Patienten, die die *PNPLA3* Variante trugen, hatten auch eine signifikant höhere Serum-AP ($P = 0,021$). Die Mutation im *NOD2* (c.3020iC) Gen war mit einer erhöhten GGT ($P = 0024$) und einem niedrigerem HDL ($P = 0,049$) assoziiert.

Schlussfolgerung: Die SLD ist eine häufige Komorbidität bei CED-Patienten. Der SLD-Phänotyp bei Patienten mit CED könnte durch genetische Varianten moduliert werden. Die Einbeziehung dieser Polymorphismen in den klinischen Alltag könnte dazu beitragen, Patienten zu identifizieren, die ein Risiko für ein fortschreiten ihrer Lebererkrankung tragen. Es werden jedoch größere Kohorten benötigt, um die Rolle von SLD-assoziierten Polymorphismen in diesem Kollektiv zu beschreiben.

1. Einleitung

1.1. Die steatotische Lebererkrankung (SLD)

Die steatotische Lebererkrankung, vormals nicht-alkoholische Fettlebererkrankung NAFLD (non alcoholic fatty liver diesase) oder jetzt SLD (steatotic liver disease) bzw. MASLD (metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease) ist in der westlichen Welt die häufigste chronische Lebererkrankung mit aktuell steigender Tendenz. Die Prävalenz variiert in der westlichen Welt zwischen 20 und 30% [111], beträgt jedoch in ausgewählten Kohorten, z.B. bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ II bis über 70% [116]. Sie ist definiert als eine Zunahme des intrahepatischen Fettanteils auf mehr als 5% des Gesamtvolumens. Bevor die Diagnose gestellt werden kann, müssen jedoch andere Lebererkrankungen ausgeschlossen werden. Hier sind zum einen genuine Lebererkrankungen wie der Morbus Wilson, ein Alpha-1-Antitrypsinmagel, die Hämochromatose, die Autoimmunhepatitis, die primär sklerosierende Cholangitis (PSC), die primär biliäre Zirrhose (PBC) und zum anderen die erworbenen Lebererkrankungen wie z.B. die Virushepatitiden und allen voran alkoholinduzierte Leberveränderungen zu nennen. Die NAFLD subsumierte die nicht alkoholische Fettlebererkrankung (NAFL: non alcoholic fatty liver), die nicht alkoholische Steatohepatitis (NASH: non alcoholic steatohepatitis), sekundäre Steatosen, zu denen auch die in den folgenden beschriebenen Veränderungen im Rahmen einer CED (chronisch entzündlichen Darmerkrankungen) zählen können, sowie die Fettleberzirrhose. Zur Unterscheidung zwischen einer ASH („alcohol induced steatosis“) und einer NASH (“non alcoholic steatohepatitis“) wurde ein meist anamnestisch erhobener Alkoholkonsum von > 20gr. Alkohol pro Tag beim Mann und > 10g bei der Frau angenommen [86].

Die Prävalenz der SLD respektive NAFLD weist geographische Unterschiede auf und ihr Auftreten ist eng mit unserem westlichen Lebensstil verknüpft. In westlichen Ländern wie Europa oder den USA liegt die Prävalenz bei 20-30%, im asiatischen Raum bei 5-18%, mit steigender Tendenz [66,118]. Die SLD ist stark mit dem metabolischen Syndrom und somit mit den entsprechenden Begleiterkrankungen wie Adipositas, dem Vorliegen einer gestörten Glucosetoleranz und einer Hyperlipidämie assoziiert und kann durchaus als eine hepatische Manifestation selbiger verstanden werden.

Um der zunehmenden Bedeutung des metabolischen Syndroms in der Entwicklung einer Steatose und der damit verbundenen Komplikationen Rechnung zu tragen, wurde im sogenannten Delphi Consensus 2023, unter Beteiligung der Amerikanischen (AASLD), der Europäischen (EASL) und weiterer Fachgesellschaften eine Änderung der Nomenklatur vorgeschlagen und der Begriff der „Metabolic dysfunction-associated steatotic liver Disease“ (MASLD) eingeführt, der die NAFLD in Zukunft ersetzen wird [83]. In dieser neuen Nomenklatur sind unter dem Überbegriff der SLD, sprich einer Lebersteatose die mittels Bildgebung oder Biopsie diagnostiziert wird insgesamt fünf Untergruppen klassifiziert (**Abbildung 8**. im Anhang). Das sind zum einen die MASLD, die „MASLD and increased alcohol intake“ -Gruppe (MetALD), die je nach der zugeführten Alkoholmenge eine

Unterklassifizierung hin zur „Alcohol associated (-related) liver diesase“ (ALD) erlaubt. Weiter als vierte Gruppe Steatosen mit spezifischer Ätiologie, wie die Drug-induced Liver injury (DILI), monogenetische Erkrankungen, wie z.B. Lysosomale Speichererkrankungen oder der Morbus Wilson und sonstige Erkrankungen die zu einer Steatose führen können wie z.B. Malnutrition oder Virushepatitiden. Als fünfte Gruppe folgen dann kryptogenen Steatosen ohne klare Ursache. Die Diagnosekriterien einer MASLD sind erfüllt, wenn mindestens einer von fünf metabolischen Risikofaktoren vorliegt. Diese sind Diabetes, Übergewicht, Bluthochdruck, erhöhte Triglyzeride sowie ein erhöhtes LDL-Cholesterin. Da der Fokus unserer Arbeit nicht auf dem Nachweis einer MASLD lag, sondern sich mit dem Nachweis einer Steatose respektive jetzt einer SLD in unserem Kollektiv von CED-Patienten beschäftigt, und da wir im Rahmen unserer Patientenakquise keine Vitalparameter, wie den Blutdruck, erhoben haben wird in unserer Arbeit der Begriff einer Steatose respektive einer SLD synonym verwand. In der Diskussion wird die in der Originalarbeit verwandte Terminologie benutz.

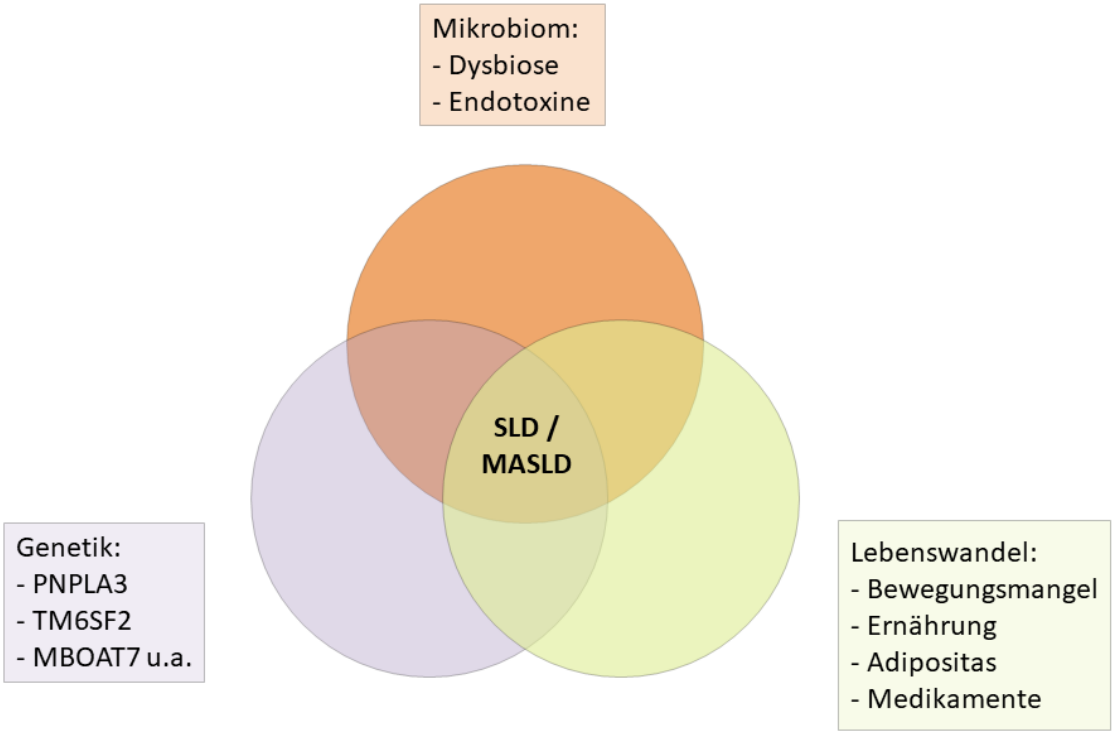


Abbildung 1. Ätiologie der SLD bzw. MASLD.

1.1.1 Genetische Determinanten für das Vorliegen einer Steatose

In einer genomweiten Assoziationsstudie (GWAS) konnte 2008 erstmals der Zusammenhang zwischen dem Vorliegen der Varianten p.I148M (c.44C>G, rs738409) im „patatin-like phospholipase domain-containing protein 3“ (*PNPLA3*) Gen und dem Vorliegen einer Fettleber gezeigt werden. In weiteren Studien konnte eine Assoziation der Mutation mit einem höheren Risiko für das Vorliegen einer Fibrose, Zirrhose und einer Erhöhung des Risikos für die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms beschrieben werden [48,106] Das *PNPLA3* Gen kodiert für Adiponutrin einem Protein das bei der Hydroxylierung von Triglyceriden eine wichtige Rolle spielt. Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass die Regulation der Genexpression abhängig von der Konzentration der freien Fettsäuren im Rahmen einer Hyperinsulinämie steht [7]. Ein Austausch von Isoleucin mit Methionin in Position 148 des Gens führt in vitro zu einer verminderten Hydrolyse von Triglyceriden und zu einer entsprechenden Anreicherung im Gewebe [35]. Da *PNPLA3* vorwiegend in der Leber, der Haut und im Fettgewebe exprimiert wird [37], führt dies im Falle einer Mutation über eine Verminderung der Hydrolyseaktivität zu einer Akkumulation von Fett in der Leber und in der Folge zur Entwickelung einer Steatose. Im Umkehrschluss müssten jedoch die Serumglucose- und die Triglycerid Spiegel bei Trägern der *PNPLA3* (p.I148M) Mutation erniedrigt sein. Hier ist die Datenlage jedoch nicht eindeutig. Wahrscheinlich ist es so, dass bei der *PNPLA3* assoziierten Fettleber, das Vorliegen der Mutation eher zu einer Reduktion der intrahepatischen Lipolyse, als zu einer verstärkten Lipidsynthese führt [49]. Die Häufigkeit der Mutation unterscheidet sich deutlich unter ethnischen Gruppen, so liegt sie z.B. bei bis zu 0,49 bei Hispanische stämmigen Amerikanern im Gegensatz zu 0,17 bei Afroamerikanern und 0,23 bei europäisch stämmigen Amerikanern [87].

Ein weiteres Risikogen konnte 2014 in einer Variante des *TM6SF2* (Transmembrane 6 Superfamily Member 2) p.E167K (c.449C>T, rs58542926) Gens identifiziert werden [47]. Das Gen kodiert ein aus 351 Aminosäuren bestehendes Protein, das im endoplasmatischen Retikulum und dem Golgi Komplex von Hepato- und Enterozyten lokalisiert und an der Synthese von Apolipoprotein B- haltigen Lipoproteinen beteiligt ist. Die Variante des Gens ist durch einen Austausch von Adenin durch Guanin in der Position 499 charakterisiert. Dies führt zu einem Einbau von Lysin statt Glutamat in das gebildete Protein und in der Folge, aufgrund der veränderten Faltung, zumindest im Tierversuch zu einem beschleunigten intrazellulären Abbau, einem erhöhten Proteinumsatz und letztlich zu einer reduzierten Genfunktion sowie einer Verminderung der Sekretion von VLDL [24]. Beim Menschen ist das Vorliegen der Mutation mit einer ALT Erhöhung, niedrigeren LDL-, Triglyceriden sowie einer erniedrigten AP vergesellschaftet [48] . Die Häufigkeit des Minor-Allels [K] beträgt um die 0,06 bei Europäern, 0,03 bei Afroamerikanern und 0,09 bei hispanisch stämmigen Amerikanern [31,47].

Mit *MBOAT7* (membrane-bound O-acyltransferase domain-containing 7 gene) konnte dann 2015 im Rahmen einer weiteren GWAS zur Klärung von Risikofaktoren, die mit der Entwicklung einer alkoholinduzierten Leberzirrhose assoziiert sind ein weiteres Gen identifiziert werden, welches zur Entwicklung entsprechend prädisponiert [14]. Die Variante rs641738 (p.G17E) geht mit einem

Funktionsverlust von *MBOAT7* einher. Das Genprodukt von *MBOAT7* ist unter anderem in den Membranen des endoplasmatischen Retikulums verankert und an der Verstoffwechselung mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFA) wie der Arachidonsäure zu Lysophospholipiden beteiligt [16]. Die Untersuchung der Metaboliten weisen darauf hin, dass das Remodeling der PI- Seitenketten zu einer Erniedrigung des Transfers von Arachidonoyl- CoA auf Lysophospahtidylinositol im Lands Zyklus führt [11]. Die Häufigkeit des Minor-Allels [T] beträgt 0,44 bei Europäern, 0,32 bei Afroamerikanern und 0,34 bei hispanisch stämmigen Amerikanern [68].

1.2. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Unter den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) werden schubweise oder kontinuierlich auftretende, entzündliche Veränderungen des Darms subsumiert. Die genaue Ätiologie der CED ist nicht hinreichend geklärt. Angenommen wird eine komplexe Interaktion zwischen dem Mikrobiom, der Immunantwort, Umweltfaktoren und der Genetik [30] (**Abbildung 1**). Die chronisch entzündlichen Darmerkrankungen lassen sich in die beiden Hauptformen dem Morbus Crohn (MC) und der Colitis ulcerosa (CU) unterteilen. Falls eine klare Zuordnung aufgrund des Befallsmusters und/oder der Histologie nicht möglich ist, spricht man von einer Colitis indeterminata. Wahrscheinlich handelt es sich bei den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen um ein Krankheitskontinuum, mit den zwei genannten Erkrankungen im Vollbild als Endpunkte.

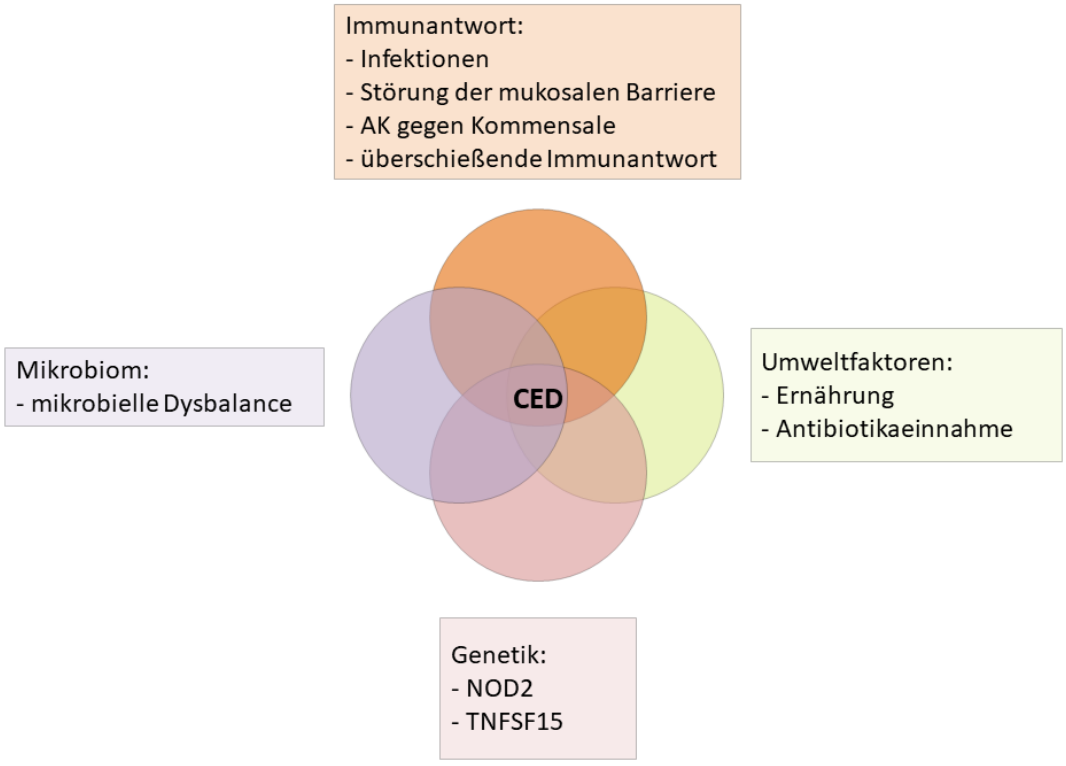


Abbildung 2. Ätiologie der CED.

So ist beim MC die transmurale Entzündung meist (40-50%) im terminalen Ileum lokalisiert. Sie kann jedoch auch, meist segmental überall im gesamten Magendarmtrakt auftreten, wobei es in 30-35% zu einem Dünndarm- und in 20-25% zu einem solitären Dickdarmbefall kommt. Die Lokalisation der Erkrankung bleibt meist stabil, kann sich aber im Verlauf der Erkrankung auch ändern [15]. Weiter wird zwischen strikturierenden und penetrierenden Verlaufsformen unterschieden. Diese führt häufig zu OPs und der Notwendigkeit der Einlage von Fisteldrainagen vor allem bei einem rektalen Befall. So liegt die Wahrscheinlichkeit, eines Patienten mit einem solitären Ileocoecalbefall im Laufe seines Lebens operiert werden muss bei 90%, von diesen muss im weiteren Verlauf dann jeder zweite mit einer weiteren OP rechnen. Neben der Entzündung des Darmes leiden mehr als ein Drittel der Patienten auch unter einer sogenannten extraintestinalen Manifestation (EIM). Hier spielen vor allem Gelenkbeschwerden, wie Arthritiden eine Rolle. Neben diesen kann es zu Hautveränderungen wie dem Erythema nodosum oder einem Pyoderma gangraenosum, zu Augenbeteiligungen, zum Beispiel einer Episkleritis oder eine Leberbeteiligung im Sinne einer PSC kommen [75]. Pathognomonisch für den MC ist der Nachweis von Granulomen in den meist im Rahmen der Koloskopie entnommener Biopsien. Im Gegensatz zum MC ist die CU durch eine diffuse chronische rezidivierende Entzündung der Colonmukosa gekennzeichnet. Klassischerweise wird histologisch eine Störung der Kryptenarchitektur beschrieben. Charakteristisch ist die kontinuierliche Ausbreitung von distal (Rektum) nach proximal (Ileocoecal), selten kann es hier zu einer Mitbeteiligung des terminalen Ileums, was als „backwash ileitis“ bezeichnet wird, kommen. Auch bei der CU kann es zu extraintestinalen Manifestationen kommen. Hier ist als prognostischer Faktor vor allem die PSC zu nennen die mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung von hepatobiliären und kolorektalen Karzinomen assoziiert ist. Im Gegensatz zum MC ist die CU mit einer Proktokolektomie „heilbar“. Jedoch persistieren bei einem beträchtlichen Teil der Patienten, hier 42%, in einer zuletzt aus der Schweiz publizierten Kohorte die extraintestinalen Beschwerden [88]. Dies verdeutlich, dass es sich bei den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen um eine Systemerkrankung handelt.

1.2.1 Genetische Determinanten für das Vorliegen einer CED

Die genaue Ätiologie der CED ist nicht geklärt und somit gibt es auch keine kausale Therapie. Bekannt ist jedoch, dass den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen eine gewisse genetische Prädisposition zugrunde liegt. Diese ist beim MC größer als bei der CU. So liegt die Wahrscheinlichkeit an einem MC zu erkranken bei eineiigen Zwillingen bei 20 bis 50% (CU 14-19%) und bei zweieigen Zwillingen, die unter denselben Bedingungen aufwachsen bei 0-7% (CU 0-7%) [33]. Durch genomweite Assoziationsstudien (GWAS) sind über 163 Genloci bekannt die mit einer CED assoziiert sind. Von diesen kommen 110 bei beiden Entitäten vor. 30 bzw. 23 Genloci sind spezifisch für eine der Unterformen. Diese 163 Genloci erklären 13,6% der MC und 7,5% der CU-Erkrankungen [23]. Zuletzt wurden weitere 38 Loci in nicht europäischen Kohorten identifiziert. Als besondere Risikogruppen wurden hier Mutationen im *NOD2*, *TNFSF15*, *ATG16L1* sowie die Kombination von *IL23R* und *IRGNM*

identifiziert [55].

Das *NOD2* Gen war das erste Gen bei dem eine enge Assoziation mit einer Mutation, im speziellen der Varianten c.3020insC, p.R702W und p.G908R. mit dem Vorliegen eines MC gezeigt wurde [2,38,71]. So ist die Wahrscheinlichkeit für Träger einer Mutation in einem der drei Allele an einem MC zu erkranken um das 2- bis 4-fache, beim Vorliegen einer homozygoten Mutation um das 15- bis 40- fache erhöht. Weiter konnte gezeigt werden, dass das Vorliegen von entsprechenden Mutationen zu einem komplizierten Verlauf prädisponiert [22]. Jedoch ist das Vorliegen der Mutation nicht zwangsläufig mit der Entwicklung eines MCs vergesellschaftet, da die entsprechende Mutation bei 0,5-2% in der Allgemeinbevölkerung und lediglich bei 20-30 % der Crohn Patienten nachgewiesen werden kann [43]. Bei dem Genprodukt von *NOD2* handelt es sich um einen Rezeptor, der Peptidoglykanfragmente, speziell Muramyldipeptid (MDP) erkennt, welches in der Zellwand von fast allen Bakterien vorkommt. Die Wirkung der NOD2 Genprodukte ist komplex und noch nicht hinreichend verstanden. Als Folge von einer Bindung an den Rezeptor kommt es zu einer Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie NFκB, activator-protein-1 (AP1) und proinflammatorischen Proteinen [18,70]. NF-κB repräsentiert eine Familie von Transkriptionsfaktoren die eine zentrale Rolle in der Regulation der Immunantwort, Zellproliferation und Apoptose spielen [30,77]. Die Aktivierung führt weiter zu erniedrigten Konzentrationen von Defensinen z.B. in Paneth- Zellen bei Patienten mit MC [112]. Defensine werden in das Darmlumen abgegeben, sind kurze antimikrobiell wirkende Proteine und sind Bestandteil der natürlichen Immunität indem sie gegen eine große Bandbreite grampositiver und -negativer Bakterien, Mykobakterien und Pilze antimikrobiell wirksam sind [39]. Kommt es zu einer Erniedrigung von z.B. α-defensin, führt dies zu einer Dysbalance in der Interaktion mit der mikrobiellen Flora im Darm, dem sogenannten Mikrobiom und möglicherweise zu einer Einschränkung der mukosalen Barriere, die für die CED pathognomonisch ist.

1.2.2 Mikrobielle Determinanten für das Vorliegen einer CED

Das Mikrobiom beinhaltet eine riesige Anzahl von Mikroorganismen (10^{11} pro ml im Colon, 10^{8} im Ileum und 10^{4}im Magen [96]) und beeinflusst und interagiert eng mit dem Immunsystem im Gastrointestinaltrakt. Bei Patienten mit CED sieht man eine Veränderung der Zusammensetzung des Mikrobioms was als Dysbiose bezeichnet wird. So konnte u.a. gezeigt werden, dass es bei CED-Patienten zu einer Zunahme von Bacterioides und Proteobachteriae und zu einem Verlust von Firmicutis Spezies kommt. Weiter zeigte sich eine Reduktion der Diversität [73]. Es wird angenommen, dass es im Rahmen dieser Dysbalance zu einer Zunahme von pathogen wirkenden Mikroorganismen im Darm kommt [17].

1.3. Gemeinsamkeiten der SLD / MASLD und CED

Die genaue Pathophysiologie der Entstehung einer Steatose bei CED-Patienten ist unklar. Die MASLD ist wie oben beschrieben definitionsgemäß mit mindestens einem metabolischen Risiko vergesellschaftet [19,66,83] und meist mit einem metabolischen Syndrom assoziiert. Die Häufung von Steatosen bei CED-Patienten könnte sich also durch eine entsprechende Häufung adipöser Patienten mit einem metabolischen Syndrom auch unter den CED-Patienten erklären. Interessanterweise gibt es jedoch Daten die Zeigen das CED-Patienten mit einer Steatose im Vergleich zu Patienten ohne CED jünger waren, ein geringeres Körpergewicht, einen geringeren Bauchumfang und eine geringere Prävalenz des Metabolischen Syndroms aufweisen [82]. Das legt den Schluss nahe, dass die CED selbst möglicherweise eine eigene Rolle bei der Entwicklung einer Steatose einnimmt.

Beide Erkrankungen weisen gemeinsame Pathomechanismen, wie eine rezidivierende entzündliche Aktivität, eine Störung der Mikrobioms, sowie die Einnahmen von potentiell lebertoxischen Medikamenten auf [82,101]. Hinzu kommt weiter, dass dem Übergewicht selbst eine proinflammatorische Wirkung zugeschriebene wird [34,40].

2. Problemstellung

Ziel der Arbeit war die Charakterisierung und Quantifizierung von Lebererkrankungen bei Patienten mit CED sowie eine Evaluation bezüglich besonderer Risikofaktoren und möglicher Prädiktoren in diesem Patientenkollektiv.

2.1. Fragestellungen

1.) Wie ist die Prävalenz von Lebererkrankungen, insbesondere der SLD respektive einer Steatose bei Patienten mit CED die sich in unserer ambulanten Behandlung befinden?
2.) Gibt es spezielle genetische Risikofaktoren oder Konstellationen für die Entwicklung bzw. das Vorliegen einer SLD?

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine monozentrische prospektive Beobachtungsstudie. Alle Patienten mit vordiagnostizierter CED die im Zeitraum von April 2014 bis Juli 2015 in der Ambulanz für chronisch entzündliche Darmerkrankungen der Klinik für Innere Medizin II - Gastroenterologie und Endokrinologie am Universitätsklinikum des Saarlandes therapiert und gesehen wurden, wurden für die Teilnahme an der Studie evaluiert. Einschlusskriterium war, dass eine klinisch stabil eingestellte CED vorlag. Alle Patienten, welche die Kriterien zur Studienteilnahme erfüllten, wurden über die Studie und gemäß dem Gendiagnostikgesetz aufgeklärt und bekamen eine Informationsmappe, sowie eine Einverständniserklärung ausgehändigt. Die Daten derjenigen Patienten, die sich zur Studienteilnahme bereit erklärten, wurden in anonymisierter Form ausgewertet. Das Forschungsvorhaben wurde durch zuständigen Ethikkommission der Saarländischen Landesärztekammer unter der Registrierungsnummer 237/12 (siehe **Abbildung 7. i**m Anhang) bewilligt.

3.2 Fragebogen

Zur strukturierten Anamnese bezüglich der vorliegenden Darmerkrankung der entsprechenden Medikation, sowie den allgemeinen Lebensgewohnheiten und speziellen Risikofaktoren einer Lebererkrankung wurden allen Patienten Fragebögen ausgehändigt.

3.3 Funktionsdiagnostik

Gemäß dem Studienprotokoll sollte bei allen Probanden eine transienten Elastographie sowie eine Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) zur Bestimmung der Körperzusammensetzung erfolgen. Die transienten Elastographie (FibroScan©, Echosens, Paris, Frankreich), sowie die BIA- Messung erfolgten durch die zuständigen entsprechend geschulten Pflegekräfte des Ambulanzbereiches.

3.3.1. Elastographie (FibroScan ©)

Die transiente Elastographie (Fibroscan©) ist ein Verfahren, mit dem die Lebersteifigkeit sowie der Fettgehalt der Leber nichtinvasiv bestimmt werden kann. Hierfür wird von einem speziellen Schallkopf ein schmerzlose niedrigamplitudige und niederfrequente (50Hz) Impulswelle in die Leber abgegeben. Diese bewirkt eine Scherwelle die sich im darunterliegenden Gewebe ausbreitet. Mit Hilfe einer Ultraschallsonde wird nun die Ausbreitungsgeschwindigkeit gemessen. Diese verhält sich direkt proportional zur Gewebsdichte: $E=3pV^2$, wobei p die Dichte des Gewebes und V die „Schergeschwindigkeit“ darstellen. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Scherwelle steigt mit der Steifheit des Gewebes. Der Fibroscan© misst die Lebersteifigkeit im Volumen eines Zylinders mit einer

Breite von 1 cm und einer Tiefe von 4 cm, in einer Tiefe von 25 bis 65 mm unter der Hautoberfläche. Die Untersuchung selbst wird am auf dem Rücken liegenden Patienten durchgeführt. Dieser hat den rechten Arm über den Kopf genommen. Die Sonde wir im Bereich des Rippenzwischenraums über dem rechten Leberlappen aufgesetzt. Durch die Betätigung des Auslösers werden nun die einzelnen Messungen ausgeführt. (siehe **Abbildung 3.**). Vom Gerät als nicht valide interpretierte Befunde werden dokumentiert und nicht in die Messung mit einbezogen. Das Ergebnis der Lebersteifigkeit (E) wird in Kilopascal (kPa) und das des Steatosegrades (CAP: controlled attenuation parameter) in dB/m ausgegeben und entspricht nach Maßgabe des Herstellers dem Median aus 10 validen Messungen. Die Werte reichen von 2,5 bis 75 kPa. und 100 bis 400 dB/m. Die Validität der Befunde ist zum einen abhängig von der interquartilen Streuung, welche die Variabilität der Messungen ausdrückt und nicht über 30% betragen sollte und zum anderen von der Anzahl der validen Messungen die mindestens 60% sein sollte. In der von uns charakterisierten Gruppe wurden die Untersuchungen jeweils am nüchternen Patienten von entsprechend geschultem Pflegepersonal durchgeführt.

Zur Bestimmung des Steatosegrades der Leber wurden in der vorliegenden Arbeit ein Grenzwert von 288 db/m angewendet [19]. Dieser dient auch als Referenzwert in der aktuellen Leitlinie der AASLD (American Association for Study of Liver Disease) zur klinischen Beurteilung und Umgang der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung [84]. Bezüglich der Lebersteifigkeit wurde ein Grenzwert von >13 kPa angenommen. Ab diesem Wert ist von dem Vorliegen einer Leberzirrhose auszugehen [89].

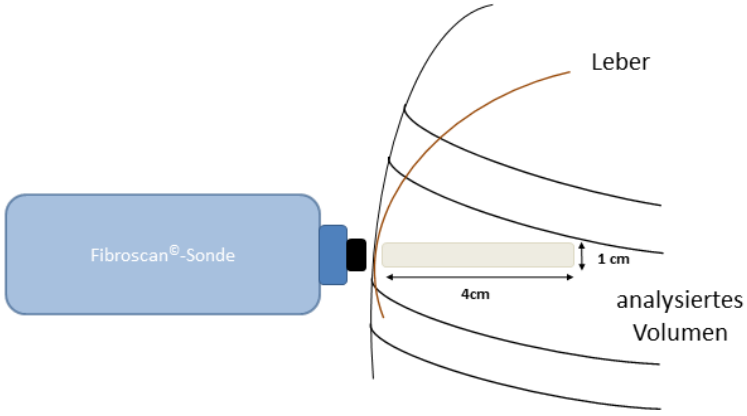


Abbildung 3. Vorgehensweise der Fibroscan© Messung.

3.3.2. Bioelektrische Impedanzanalyse

Bei der bioelektrischen Impedanzmessung handelt es sich um ein Verfahren, bei dem durch die Messung von Widerständen bei der Anlage eines Wechselstroms an den menschlichen Körper, Rückschlüsse auf dessen Zusammensetzung gezogen werden können.

Die Grundlage der Bioelektrischen Impedanzmessung ist die Tatsache, dass ein flüssigkeitsgefüllter Zylinder, an den eine Wechselspannung angelegt wird, einen gewissen Widerstand hat. Dieser ist abhängig von der Länge und des Durchmessers des Zylinders. Vereinfacht dargestellt besteht auch der menschliche Körper aus fünf gut definierten, in Serie geschalteten Zylindern, vier Extremitäten und dem Rumpf. Durch zwei Elektroden wird durch Anlage eines konstanten Wechselstroms ein homogenes elektrisches Feld mit einer konstanten Stromstärke (I) erzeugt. Mit zwei weiteren Elektroden wird parallel der Spannungsverlauf (U) abgemessen. Der Körper selbst setzt dem erzeugten Wechselstrom einen Widerstand, die sogenannte Impedanz (Z) entgegen. Diese setzt sich aus dem Widerstand (R) des elektrolythaltigen Gesamtkörperwassers (Flüssigkeit oder Elektrolyte) und der Reaktanz zusammen. Unter Reaktanz (Xc) versteht man den kapazitiven Widerstand der durch die Körperzellen entsteht die sich im Stromfeld durch ihre Zellmembranen wie Kondensatoren verhalten. Die Bestimmung der beiden Komponenten wird durch die Messung des sogenannten Phasenwinkel ermöglicht. Hierzu verfügen moderne Geräte über eine phasensensitive Elektronik. Nimmt man an, dass menschliche Zellen mit ihren Zellmembranen sich wie eine Kugelkondensator verhalten, so entsteht eine Zeitverschiebung Δ T, das Strommaximum eilt dem Spannungsmaximum voraus. Da Wechselstrom eine Sinusform hat, kann diese Verschiebung in Grad gemessen und als Phasenwinkel dargestellt werden. Gesunde und intakte Zellen mit stabiler Membran haben einen hohen, geschädigte einen entsprechend niedrigen Phasenwinkel. Dieser ist direkt proportional zur Menge der Körperzellmasse (BMC: Body Cell Mass). Der Phasenwinkel lässt somit direkte Rückschlüsse auf die Integrität der Zellen und somit auf den Zustand des Körpers zu, wobei ein hoher Phasenwinkel mit einer guten körperlichen Verfassung gleichzusetzten ist. Neben dem Phasenwinkel können auch die Fett- und die fettfreie Masse sowie die Skelettmuskelmasse bestimmt werden. Weiter ist es möglich das Gesamtkörperwasser (TBW: „total body water“), welches sich aus intra- (ICW: „intracellular water“) und extrazellulärem (ECW: „extracellular water“) Wasser zusammensetzt, zu berechnen. Dies lässt wiederum Rückschlüsse auf die Hydration, dem Verhältnis zwischen ECW und ICW zu.

Aus den erhobenen Vitalparametern, sowie dem vom Patienten angegeben Aktivitätslevel, lässt sich weiter der Ruhe- (REE: resting energy expenditure) sowie der Gesamtenergieverbrauch (TEE: total energy expenditure) bestimmen.

3.4 Labordiagnostik

Im Rahmen der Vorstellung wurde eine Laboranalytik durchgeführt. Die beinhaltete folgende Parameter: Kleines Blutbild (Hb, HKT, Leukozyten, Thrombozyten, MCH, MCHC, Erythrozyten, RDW, Retikulozyten, MPV) Differentialblutbild (Eosinophile, Lymphozyten, Monozyten, Neutrophile, Neutrophile absolut, Basophile, Normoblasten), Gerinnung (Quick, INR, pTT, Thrombinzeit, Fibrinogen) Klinische Chemie (Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium, Kreatinin, Cystatin-C Harnstoff, Harnsäure, Glucose, CK, ALAT, ASAT, gamma-GT, Alkalische Phosphatase, Bilirubin gesamt, Eiweiß, Lipase, LDH, Phosphat, GLDH, Albumin, Magnesium, Ferritin, HbA1c, Cholesterin, Triglyceride, LDL-Cholesterin, CRP, PCT, Eisen, Kupfer, freies Kupfer, Selen, Zink) Hormone (TSH, freies T3, freies T4, Parathormon), Leberspezifische Parameter (Transferrin, Transferrin Sättigung, IgA, IgG, IgM, IgE, alpha-1-Antitrypsin, Coeruloplasmin, LKM, SLA), Vitamine (Vit. A, B1, B6, D, B12, E, Folsäure Holo-TC, Methylmalonsäure, beta-carotin). Weiter wurde eine Hepatitis A-E Serologie abgenommen, der EBV, CMV, HSV, VZV, FSME und Parvovirus B 19 Status und die Impftiter für Mumps, Masern und Rötel geprüft. Unabhängig von den oben genannten Parametern, wurde noch abhängig von den laufenden Therapien Medikamenten und Antikörperspiegel (Infliximab und Adalimumab), sowie der Spiegel der Metaboliten bei laufender Azathioprin Therapie (6-MMP und 6-TGN) bestimmt. Neben den erhobenen Werten wurde EDTA-Blut für die später durchgeführte genetische Analyse entnommen.

3.5 Genetische Diagnostik

3.5.1 DNA-Extraktion

Die Proben zur genetischen Analyse wurden initial eingefroren. Die DNA-Isolierung und Gentypisierung erfolgte nach Abschluss der Patientenakquise. Zur Isolierung und Aufreinigung der DNA aus dem Vollblut wurde das QIAmp DNA Blut Mini Kit der Firma Quiagen (Heidelberg) verwandt. Bei diesem Vorgang wird nach der Denaturierung der Zell- und Kernmembran die frei gewordenen DNA während eines Zentrifugiervorgangs an die Kieselgel-Membran einer Spin- Säule gebunden (Festphasenextraktion). Die Gebundene DNA wird dann in zwei Schritten gereinigt und letztlich mit einem Extraktionspuffer eluiert. Anschließend wurden, zur Qualitätssicherung die Konzentration und die Reinheit der DNA-Lösung am Spektralphotometer (NanoDrop) der Firma PeqLab gemessen.

3.5.2 Genomtypisierung

Im Rahmen der Arbeit wurden die entnommenen Blutproben auf Folgende Mutationen hin analysiert:

Genlokus	NCBI SNP ID:
PNPLA3 p.I148M	rs738409
TM6SF2 p.E167K	rs58542926
MBOAT7 p.G17E	rs641738
NOD2 c.3020insC	rs2066847
NOD2 p.R702W	rs2066844
NOD2 p.G908R	rs2066845

Tabelle 1. Analysierte Genloci mit der entsprechender SNP ID.

Die eingesetzten Proben und Basensequenzen sind in im Anhang dargestellt (**Tabelle 11.** im Anhang). Die Typisierung der Genpolymorphismen erfolgte mit dem TaqMan® System (Applied Biosystems). Bei diesem PCR-Verfahren zum Nachweis genetischer Polymorphismen, sogenannter SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) kommen neben den spezifischen Primern Oligonukleotide, also Sonden zum Einsatz, die an Fluoreszenzfarbstoffe gekoppelt sind. Am 5` Ende der TaqMan Probe, die an den SNPs, bindet ist der sogenannte Reporter lokalisiert. Wird dieser angeregt so emittiert er Energie einer bestimmten Wellenlänge, die jedoch vom zweiten Fluoreszenzfarbstoff, dem sogenannten Quencher (am 3´ Ende) aufgrund der initial engen räumlichen Nähe wieder absorbiert und somit unterdrückt. Diesen Vorgang nennt man einen Fluoreszenz- Energietransfer (FRET: Förster-Resonanzenergietransfer). Im Rahmen der Elongation des separierten DNS-Stranges durch die Taq-Polymerase wird nun, da letztere auch eine 5`-3`Exonukleasefunktion hat, die Sonde zerlegt und somit der Reporter abgespalten.
Die Fluoreszenz kann dann, da wegen der räumlichen Distanz nicht mehr vom Quencher unterdrückt, gemessen werden (**Abbildung 3.**). Somit ist eine quantitative Beistimmung der untersuchten Genpolymorphismen möglich.

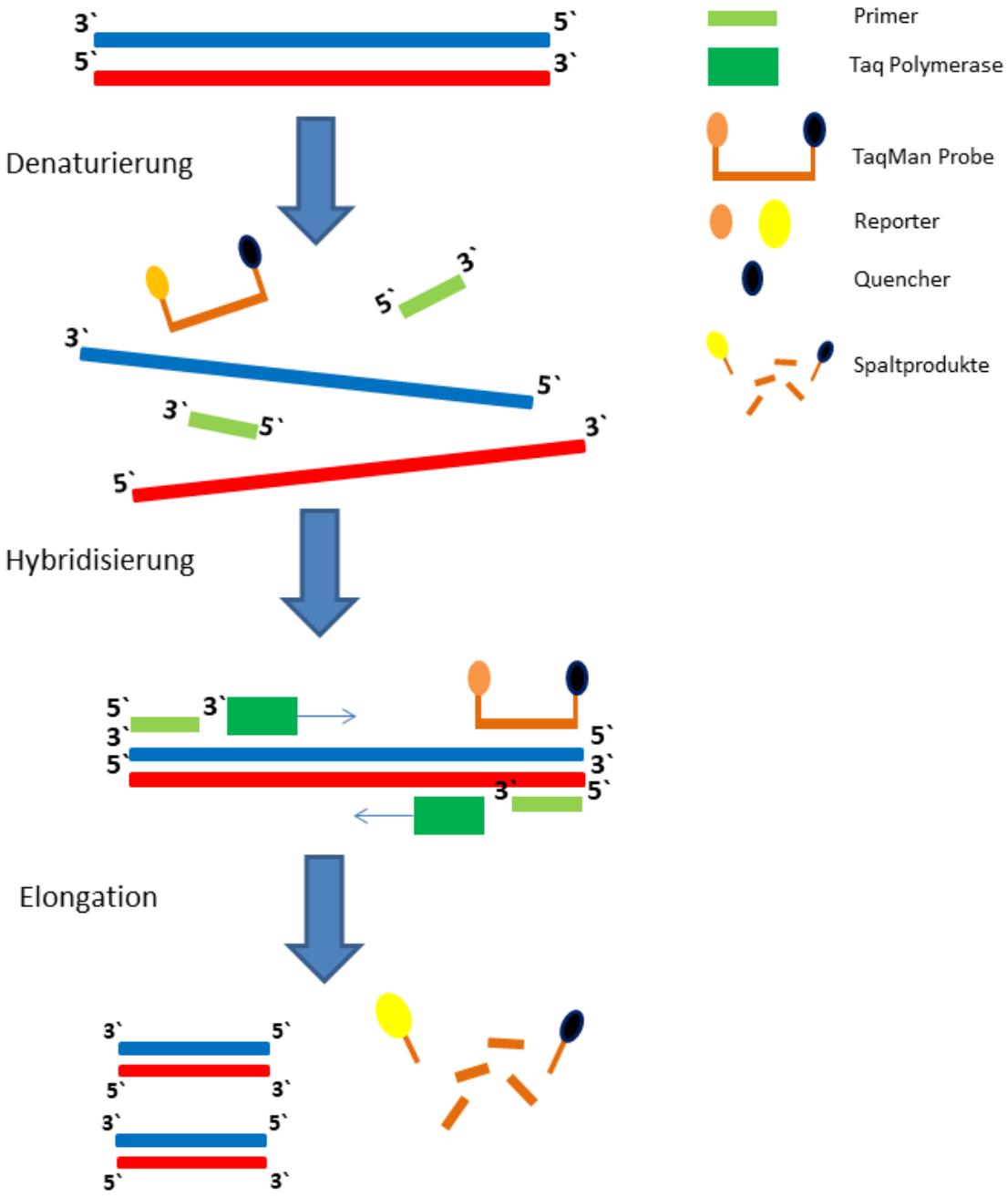


Abbildung 3. Prinzip des TaqMan Assays.

Praktisch wurde wie folgt vorgegangen. Er wurden Mikrotiterplatten mit 96 Ansatzgefäßen verwandt. In jedem Ansatz wurden 3 Referenzproben (wildtyp / heterogen / mutiert) sowie drei Negativkontrollen (aq. dest.) mit gemessen. Nach dem Ansatz der Proben wurden diese abgedeckt, zentrifugiert und mit Hilfe eines realtime PCR-Systems (Applera, Norwalk, CT) gemessen. Graphisch ergibt sich dann die Darstellung der Allel-Verteilung (**Abbildung 4.**).

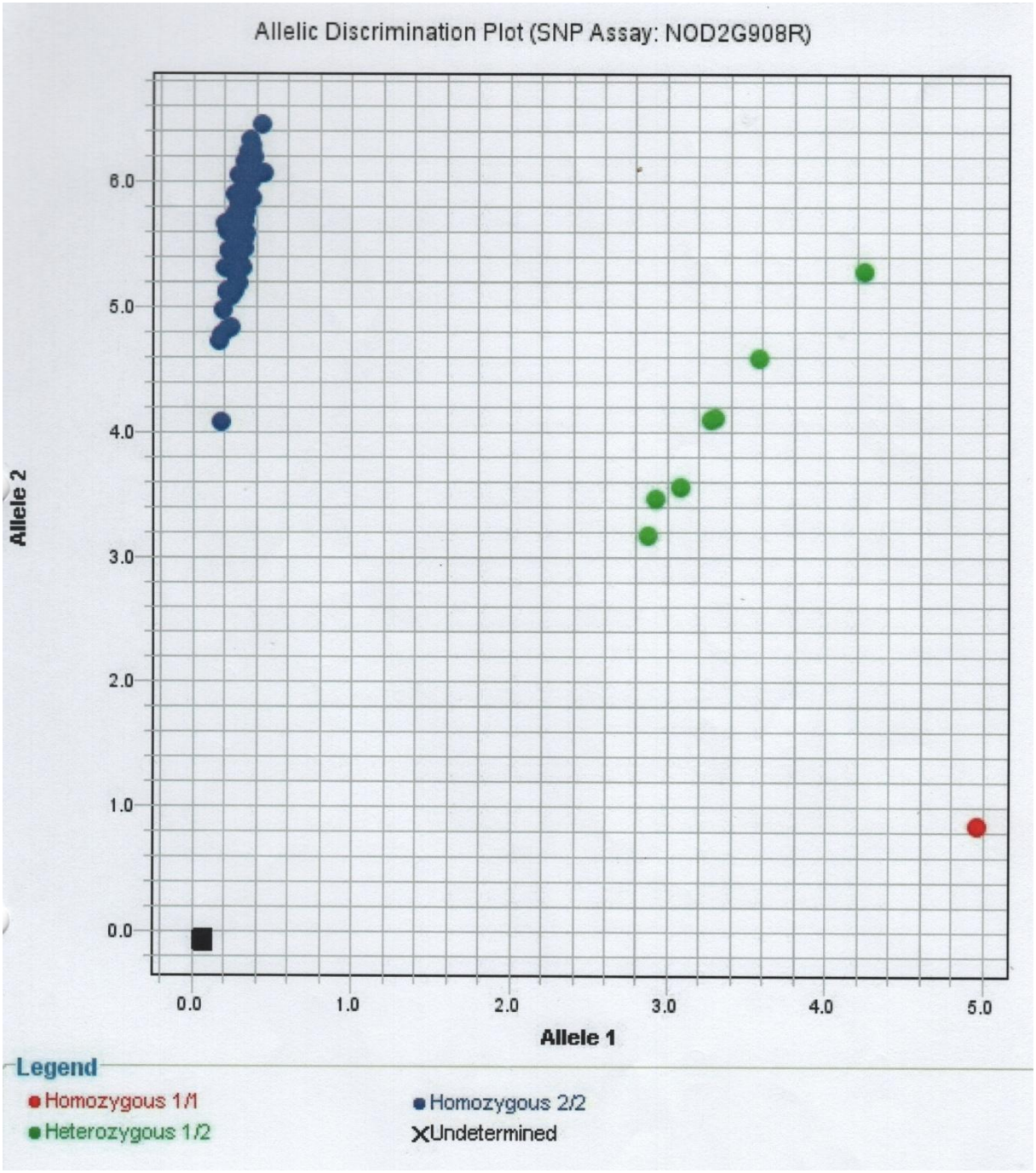


Abbildung 4. Abgrenzung der Allelverteilung im TaqMan Assays.

3.6 Statistische Analyse

Alle quantitativen Variablen wurden anhand von Mittelwerten, Standardabweichung und dem Shapiro-Wilk und Kolmogorov-Smirnov Test auf das Vorliegen einer Normalverteilung untersucht. Die Diagnosestellung einer SLD erfolgte anhand der Ergebnisse der transienten Elastographie. Bei Messwerten größer gleich 288 dB/m wurde eine Steatose angenommen.

Für die Evaluation, bezüglich besonderer Risikofaktoren in unserem Patientenkollektiv, erfolgte ein Vergleich der Patientengruppe bei denen eine SLD diagnostiziert worden war, mit der Gruppe ohne Nachweis einer Lebererkrankung. In den zunächst durchgeführten bivariablen Analysen erfolgte die Prüfung für quantitative Variablen mittels t- oder Mann-Whitney U-Test entsprechend der jeweiligen Verteilung der Werte. Zur Prüfung von Häufigkeitsverteilungen wurde der exakte Test nach Fisher angewandt. Werte mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p \leq 0.05$ wurden als signifikant angesehen. Für die Berechnung von Odds Ratios (OR) und 95% Konfidenzintervallen wurde ein binäres logistisches Regressionsmodell erstellt. Merkmale, die in bivariablen Analysen einen p-Wert von < 0.05 zeigten wurden nach einer schrittweisen Vorwärts- und Rückwärtsselektion für das logistische Regressionsmodell ausgewählt.

Die Daten wurden initial in einer Excel Tabelle (Microsoft Office 2021) zusammengestellt. Die statistischen Analysen wurde mit der Software IBM SPSS Statistics version 26 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) durchgeführt. Patienten mit einer sonstigen Lebererkrankung, oder die nicht hinsichtlich der Lebersteifigkeit untersucht wurden, wurden von der Analyse ausgeschlossen.

4. Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

4.1.1 Allgemeine Patientencharakteristika

Innerhalb des Beobachtungszeitraumes von März 2014 bis Juli 2015 wurden 102 Patienten in die Studie aufgenommen. Die Rücklaufquote der 102 ausgeteilten Fragebögen lag bei 73 (69,5 %). Insgesamt wurden 15 Patienten aus der weiteren Analyse ausgeschlossen. Bei fünf Patienten lag eine eigenständige Lebererkrankung vor. Drei Patienten hatten einen Hepatitis C in der Vorgeschichte und zwei Patienten eine primär sklerosierende Cholangitis (PSC). Bei fünf Patienten wurde keine Elastographie durchgeführt und bei drei Patienten konnte zwar eine Elastographie durchgeführt werden, die Messung des Fettgehaltes war jedoch nicht möglich. Bei zwei Patienten lag die Lebersteifigkeit bei ≥13 kPA, sodass hier von einer manifesten Leberzirrhose auszugehen war [89]. Im folgenden Ergebnisteil wurden lediglich signifikante Ergebnisse dargestellt, nicht signifikante Werte finden sich im Anhang.

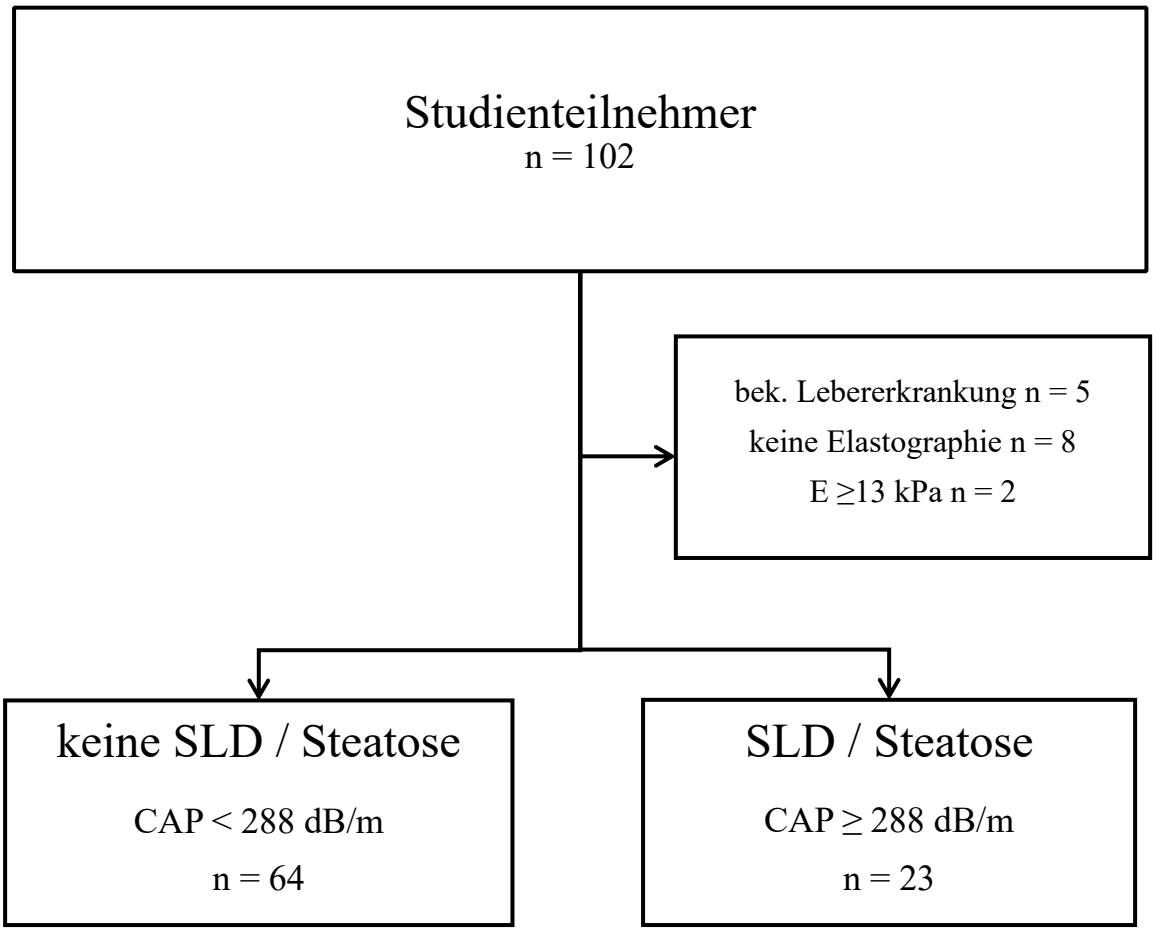


Abbildung 5. Studienablauf Diagramm.

Von den verbleibenden 87 waren 50 (57,5%) männlich, das Durchschnittsalter lag im Mittel bei 42,6 (± 13,7) Jahren. Der mittlere BMI lag bei 26,81 (± 6,10) kg/m^2 und 70 (80,5%), von den eingeschlossenen Patienten litten 70 (80,5%) unter einem MC sowie 17 (19,5%) unter einer CU. Im Mittel hatten die Patienten 1,28 (± 0.6) spezifische Therapie, die mittlere Erkrankungsdauer lag bei 15,15 (± 11,6) Jahren.

	eingeschlossen Probanden (n = 87)
Alter (a)	42,6 ± 13,7
Geschlecht, männlich*	50 (57,5%)
Größe (m)	1,7 ± 0,1
Gewicht (kg)	78,1 ± 17,4
BMI (kg/m^2)	26,8 ± 6,1
ALAT (GPT) (U/I)	28,3 ± 17,3
ASAT (GOT) (U/I)	25,1 ± 8,3
AP (U/I)	74,4 ± 25,4
GGT (U/I)	30,5 ± 24,7
Cholesterin (mg/dl)	170,6 ± 42,7
Triglyceride (mg/dl)	126,4 ± 80,9
LDL-Cholesterin (mg/dl)	95,1 ± 37,95
HDL-Cholesterin (mg/dl)	56,8 ± 17,66
CAP (db/m)	248,5 ± 61,5
E (kPA)	5,2 ± 1,8
Diagnose:	
M. Crohn	70 (80,5%)
Colitis ulcerosa	17 (19,5%)
Erkrankungsdauer (a)	15,1 ± 11,6
Anzahl der Therapien (n)	1,28 ± 0,60

Tabelle 2. Allgemeine Patientencharakteristika.

4.1.2 Leber- Elastographie (FibroScan®)

Gemäß der graphischen Darstellung der CAP-Werte im Kollektiv und der Wahrscheinlichkeitstestungen nach Kolmogorov-Smirnow (p = 0.200) und Shapiro-Wilk (p= 0.525), lag eine Normalverteilung der CAP-Werte im untersuchten Kollektiv vor. Die Lebersteifigkeit E zeigte hingegen in der Gesamtheit keine Normalverteilung (Kolmogrov-Smirnow (p = 0.027) und Shapiro-Wilk (p = 0.000)). Teils wurde diese in der Korrelation mit den genetischen Mutationen jedoch erreicht. Signifikante Korrelationen ergaben sich nicht (**Tabelle 13.** im Anhang). Aufgrund der Fragestellung der Arbeit hinsichtlich des Vorliegens einer Steatose wurde auf eine weitere Analyse der Lebersteifigkeit verzichtet.

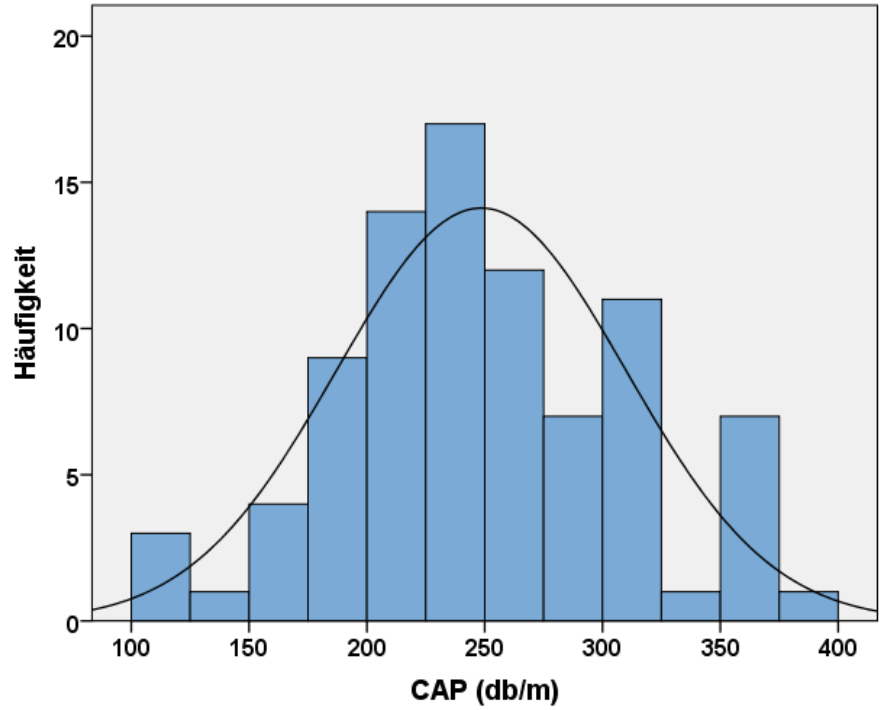


Abbildung 6. Normalverteilung der CAP-Werte.

Als „cut off“ für das Vorliegen einer SLD wurde ein Wert von ≥288 db/m angenommen [19]. Daraus ergibt sich eine Gruppe von 23 (26,4 %) Patienten mit dem Bild einer SLD. Bei 64 Patienten lag der Leberfettgehalt in der Norm. Die gemessene CAP-Werte lagen im Mittel bei 248,5 ± 61,1 (db/m), die Lebersteifigkeit bei 5,16 ± 1,75 kPA. Das Durchschnittsalter der Patienten, bei denen eine SLD diagnostiziert werden konnte, war mit 46.15 (± 11,5) tendenziell höher als bei Patienten ohne SLD, die im Mittel 41,4 (± 14,3) Jahre alt waren, das Signifikanzniveau wurde jedoch nicht erreicht (p = 0,106). Erwartungsgemäß war das Gewicht mit 73,2 (± 16,3) kg vs. 91,7 (± 12,9) kg sowie der BMI mit 25,15 (± 5,5) vs. 31,5 (± 5,2), jeweils (p < 0,000) signifikant erhöht. Die Erkrankungsdauer betrug bei Patienten mit einer SLD 17.2 (± 12.0) und bei Patienten ohne 14,4 (± 11.3) Jahre, erreichte jedoch kein

Signifikanzniveau (p = 0.236). Die Anzahl der laufenden Therapie, sowie der angegebene Alkoholkonsum hatte statistisch in unserem Kollektiv keinen Einfluss auf den Fettgehalt der Leber.

	Alle (n = 87)	**keine SLD (n = 64)**	**SLD (n = 23)**	**P**
Gewicht (kg)	78,1 ± 17,4	73,2 ± 16,3	91,7 ± 12,9	< 0,000
BMI (kg/m^2)	26,8 ± 6,1	25,15 ± 5,5	31,5 ± 5,2	< 0,000

Tabelle 3. Basischarakteristika der Patienten mit und ohne die Diagnose einer SLD (sig.).

Kategoriale Merkmale werden als Fallzahl (%) und quantitative Merkmale als Mittelwert (± Standardabweichung) angegeben; als Signifikanzniveau wird ein Wert p < 0,005 angenommen. Abkürzungen: BMI: Body-Mass Index Die Patientengruppen wurden anhand des Mann-Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter verglichen.

4.1.3 Bioimpedanzmessung (BIA)

Die im Rahmen der BIA- Messung erhobenen Werte zeigen, dass Patienten mit einer SLD mit 91,7 (± 12.9) kg gegenüber 73.2 (± 16.3) kg ein signifikantes (P < 0,000) höheres Gewicht aufweisen. Dies schlägt sich folglich in einem höheren BMI (p < 0,000), einem relativen (p < 0,000) als auch absolutem (p < 0,000) Fettanteil in kg sowie in einem höheren Fettmasse-Index in kg/m^2 (p < 0,000) nieder. Weiter zeigt sich ein signifikant erhöhter extrazellulärer Wassergehalt, ein erhöhter Energieverbrauch in Ruhe, ein erhöhter Fettmasse Index, sowie ein erhöhter Fettfreiemasse-Index bei Patienten mit einer SLD/Steatose gegenüber ohne Steatose.

	Alle (n = 87)	**keine SLD (n = 64)**	**SLD (n = 23)**	**P**
Gewicht (kg)	78 ± 17,4	73,2 ± 16,3	91,7 ± 12,9	< 0,000
BMI (kg/m^2) (i)	26,8 ± 6,1	25,1 ± 5,5	31,5 ± 5,2	< 0,000
Relativer Fettanteil (%kg)	31,3 ± 11,1	28,7 ± 10,8	38,2 ± 8,9	< 0,000
Abs. Fettanteil (kg)	25,3 ± 12,3	21,7 ± 10,7	35,3 ± 10,6	< 0,000
Extracellular water (l)	16,6 ± 3,1	24,3 ± 2,9	18,6 ± 2,9	0,009
Energieverbrauch Ruhe (kcal) (i)	1612 ± 276	1554 ± 281	1770 ± 191	0,001
Fettmasseindex (kg/m^2) (i)	8,9 ± 4,8	7,6 ± 4,3	12,4 ± 4,6	< 0,000
Fettfreiemasseindex (kg/m^2) (i)	18 ± 2,5	17,5 ± 2,4	19,3 ± 2,2	0,009

Tabelle 4. Bioimpedanzmessung der Probanden ohne und mit einer SLD/Steatose (sig.).
Quantitative Ergebnisse werden als Mittelwert (± Standardabweichung) angegeben; als Signifikanzniveau wird ein Wert p < 0,005 angenommen. Die Patientengruppen wurden anhand des Mann-Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung und eines T-Testes bei Normverteilung(i) im Shapiro Wilk Test verglichen.

4.2 Laborchemische Analytik

4.2.1 Leberspezifische Laborparameter

Bei der Analyse der Leberspezifischen Laborparameter (ALAT, ASAT, AP, GGT, Bilirubin und INR) zeigte sich, dass Patienten mit dem Nachweis einer Fettleber im Rahmen der Elastographie eine signifikant höherer ALAT ($p < 0,000$), ASAT ($p = 0,016$), GGT ($p < 0,000$) sowie einen erhöhte INR ($p = 0,027$) aufwiesen.

	Norm	**Alle (n = 87)**	**keine SLD (n = 64)**	**SLD (n = 23)**	**P**
Leberwerte					
ALAT (GPT)	10-50 U/L	28,3 ± 17,3	24,52 ± 14,9	38,78 ± 19,3	< 0,000
ASAT (GOT)	10-50 U/L	25,1 ± 8,3	23,61 ± 6,6	29,35 ± 10,8	0,016
GGT	< 60 U/L	30,5 ± 24,7	26,22 ± 19,5	42,3 ± 33,1	< 0,000
INR	0,85-1,15	0,96 ± 0,28	0,95 ± 0,18	0,98 ± 0,47	0,027
Entzündungswerte					
α-1-Antitrypsin	90-200 mg/dl	146,7 ± 30,8	149,9 ± 30,5	137,7 ± 30,5	0,044
Hormone und Vitamine					
Vitamin A	30-70 µg/dl	51,3 ± 13.9 (86)	49,2 ± 12,7	57,4 ± 15,5 (22)	0,015
Vitamin B6	4,8-36,9 ng/ml	14,4 ± 16,2	16,2 ± 18	9,2 ± 6,0	0,032
Vitamin E	500-2000 µg/dl	1324 ± 372 (86)	1241 ± 354	1567 ± 320 (22)	< 0,000
Fettstoffwechsel					
Cholesterin	< 200mg/dl	170,59 ± 42,7	164,8 ± 40	186,7 ± 46,7	0,041
Triglyceride	< 150mg/dl	126,38 ± 80,9	103,4 ± 51,1	190,2 ± 111	< 0,000

Tabelle 5. Klinisch-chemischen Analytik der Probanden ohne und mit einer SLD (sig.).

Quantitative Ergebnisse werden als Mittelwert (± Standardabweichung) angegeben; als Signifikanzniveau wird ein Wert < 0,005 angenommen, fehlende Werte sind in Klammern angegeben. Mann-Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

4.2.2 Entzündungsspezifische Laborparameter

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede beim Vergleich von Entzündungswerten (Leukozyten, CRP, Calprotectin) sowie von Akute Phase Proteinen wie Ferritin und Coeruloplasmin in der Gruppe mit und ohne Fettleber. Das Alpha-1-Antitrypsin zeigte sich bei Patienten mit einer SLD grenzwertig aber signifikant erniedrigt ($P = 0,044$).

4.2.3 Hormone, Spurenelemente und Vitamine

Bei der Analyse der bestimmten Hormone (TSH, fT3m fT4, Parathormon), Spurenelemente (Kupfer, Eisen, Selen, Zink) und der Vitamine und entsprechender Vorstufen (Vitamin A, B1, B6, B12, D, E, Folsäure, beta-Carotin) zeigt sich, dass Patienten mit einer SLD einen signifikant erhöhten Spiegel für Vitamin A (P = 0,015), E (p < 0,00) und einen erniedrigten Wert für Vitamin B6 (P = 0,032) aufwiesen.

4.2.4 Parameter des Fettstoffwechsels

Betrachtet man die Parameter des Fettstoffwechsels so zeigt sich, dass bei Patienten mit einer Steatose die Triglyceride mit 190,2 (± 111) mg/dl gegenüber 103 (± 51,1) mg/dl (p < 0,000) sowie das Cholesterin mit 186,7 (± 46,79) gegenüber 164,8 (± 40) (p = 0,041) beim Vorliegen einer Steatose signifikant erhöht sind.

4.3 Genetische Analysen

4.3.1 *PNPLA3*

In der analysierten Kohorte hatten 52 (59,8%) Patienten einen Wildtyp [CC], 30 (34,5%) waren heterozygot [CG] und bei 5 Patienten (5,7%) lag eine Mutation [GG] des *PNPLA3* p.I148M Gens vor. Bei der Korrelation mit dem CAP-Wert zeigte sich eine der Tendenz im Sinne eine Zunahme des CAP-Wertes von im Mittel 242,6 (± 61,5) beim Vorliegen eines Wildtyps [II] über 254,4 (± 63,8) beim Vorliegen eines heterozygoten Typs hin zu 274,6 (± 61,4) [MM] bei einem mutierten Gen. Es wurde jedoch kein Signifikanzniveau (p = 0,441) erreicht. In der Subgruppe der Patienten die unter einem Morbus Crohn litten, lies sich beim Vorliegen einer Mutation [CG + GG] im *PNPLA3* Gen gegenüber dem Wildtyp signifikant häufiger eine Steatose nachweisen (p = 0,036, Odds Ratio: 3,28 95% KI 1,047-10,282). Bei der weiterführenden Analyse wurden zwei Gruppen, nämlich Patienten die den Wildtyp tragen und Patienten mit mindestens einer Mutation unterschieden.

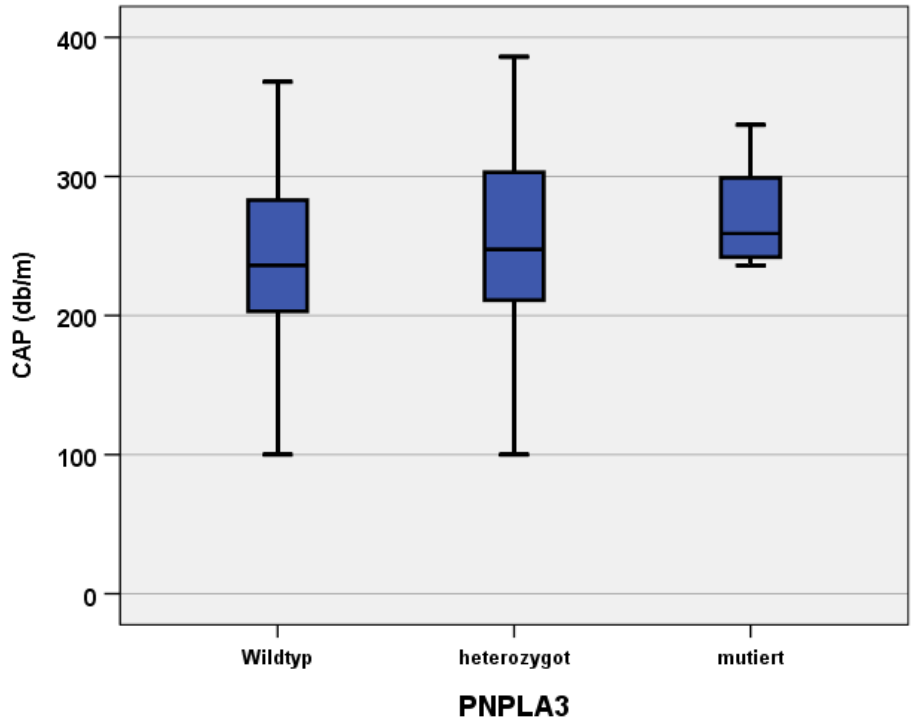


Abbildung 7. Mittlerer CAP-Wert (db/m) in Bezug auf das Vorliegen einer Mutation im *PNPLA 3* Gen.

	Alle (n = 70)	**keine SLD (n = 53)**	**SLD (n = 17)**	**P**
***PNPLA3* p.I148M**				**0,036**
WT [CC]	53 (75,7 %)	34 (64,2%)	6 (35,3%)	-
mutiert [CG + GG]	17 (24,3 %)	19 (35,8%)	11 (64,7%)	-

Tabelle 6. Verteilung der untersuchten Mutation bei MC-Patienten (sig.) Verglichen wurden die Wildtypen sowie die Summe der Mutationen, respektive der Minorvarianten von PNPLA3 in der untersuchten Kohorte, sowie die Verteilung bei Patienten ohne und mit einer SLD. Chi-Quadrat Test bei Normalverteilung der Parameter.

4.3.2 *TM6SF2*

In der analysierten Kohorte hatte 74 (85,1,1%) Patienten einen Wildtyp [CC], 12 (13,8%) waren heterozygot [CT] und bei einem Patienten (1,1%) lag eine homozygote Mutation [TT] des *TM6SF* Gens vor. Bei der Korrelation mit dem CAP-Wert zeigte sich keine Tendenz im Sinne einer Zunahme des CAP-Wertes von im Mittel 251 (± 62) beim Vorliegen eines Wildtyps [CC] über 232 (± 62) beim Vorliegen eines heterozygoten Typs, hin zu 241 [TT] beim mutierten Gen.

4.3.3 *MBOAT7*

In der analysierten Kohorte hatten 28 (32,2%) Patienten einen Wildtyp [CC], 38 (43,7%) waren heterozygot [CT] und bei 21 Patienten (24,1%) lag eine Mutation des *MBOT7* [TT] Gens vor. Bei der Korrelation mit dem CAP-Wert zeigte sich keine Tendenz im Sinne Veränderung des CAP-Wertes von im Mittel 247 (± 54) beim Vorliegen eines Wildtyps [CC] über 256 (± 66), beim Vorliegen eines heterozygoten Typs [CT], hin zu 237 (± 64) [TT] beim mutierten Gen. Zusammenfassend ergab sich im Gesamtkollektiv keine klare Korrelation der untersuchten Mutation im Vergleich bei Patienten mit oder ohne Fettleber (siehe **Tabelle 16.** im Anhang).

4.3.4 *NOD2*

4.3.4.1 *NOD2* c.3020iC

In der analysierten Kohorte hatten 74 (85,1%) Patienten einen Wildtyp [II], elf (12,6%) waren heterozygot und bei zwei Patienten (2,3%) lag eine Mutation des *NOD2* c.3020iC Gens vor. Bei der Korrelation mit dem CAP-Wert zeigte sich eine Tendenz im Sinne eine Zunahme des CAP-Wertes von im Mittel 247 (± 64) beim Vorliegen eines Wildtyps [II] über 251 (± 42) beim Vorliegen eines heterozygoten Typs, hin zu 290 (± 28) [MM] beim mutierten Gen. Es wurde kein Signifikanzniveau ($p = 0,626$) erreicht.

4.3.4.2 *NOD2* p.R702W

In der analysierten Kohorte hatten 75 (86,2%) Patienten einen Wildtyp [II], zehn (11,5%) waren heterozygot und bei zwei Patienten (2,3%) lag eine Mutation des *NOD2* p.R702W Gens vor. Bei der Korrelation mit dem CAP-Wert zeigte sich keine Tendenz im Sinne eine Zunahme des CAP-Wertes von im Mittel 247 (± 60) beim Vorliegen eines Wildtyps [II] über 271 (± 61), beim Vorliegen eines heterozygoten Typs, hin zu 184 (± 119) [MM] beim mutierten Gen.

4.3.4.3 *NOD2* p.G90R

In der analysierten Kohorte hatten 81 (93,1%) Patienten einen Wildtyp [II], fünf (5,7%) waren heterozygot und bei einem Patienten (1,1%) lag eine Mutation des *NOD2* pG90R Gens vor. Bei der Korrelation mit dem CAP-Wert zeigte sich keine Tendenz im Sinne einer Veränderung des CAP-Wertes von im Mittel 249 (± 63) beim Vorliegen eines Wildtyps [II] über 228 (± 41), beim Vorliegen eines heterozygoten Typs, hin zu 270 [MM] beim mutierten Gen.

4.4 Leberspezifische Parameter in Korrelation zur Genetik

Untersucht man die leberspezifischen Parameter in Korrelation mit der Genetik weiter, so erreicht die alkalische Phosphatase in Korrelation mit dem Vorliegen einer Mutation im PNPLA3 Gene Signifikanzniveau. Es zeigt sich, dass beim Vorliegen einer Mutation [IM / MM], diese im Mittel mit 82,03 (± 27,8) höher liegt als beim Vorliegen eines Wildtyps [II] mit 69,33 (± 22,5) (P = 0,021). Weiter zeigt sich die GGT beim Vorliegen einer Mutation im *NOD2* (c.3020iC) Lokus [IM / MM] mit 28,8 (± 24,3) gegenüber 40,1 (± 25,2) signifikant (P = 0,024) erhöht.

	ALAT in U/L	**ASAT in U/L**	**AP in U/L**	**GGT in U/L**
***PNPLA 3* (P)**				
p	0,393	0,112	**0,021**	0,198
WT [CC]	27,8 ± 18,2	23,9 ± 7,2	69,3 ± 22,5	30,7± 28,9
mutiert [CG + GG]	29 ± 15,9	27 ± 9,5	82,0 ± 27,8	30,1 ± 17
Alle (87)	28,3 ± 17.3	25,13 ± 8.3	74,4 ± 25.4	30,5 ± 24,7
***NOD2* (c.3020iC)**				
p	0,311	0,170	0,158	**0,024**
WT (75)	27,18 ± 15,2	24,6 ± 8,1	74,3 ± 27,2	28,8 ± 24,3
mutiert [IM + MM]	34,6 ± 24,8	28 ± 9,1	75,23 ± 10,2	40,1 ± 25,2
Alle (87)	28,30 ± 17,3	25,1 ±18,2	74,44 ± 25,4	30,5 ± 24,7

Tabelle 9. MW plus SD der Leberwerte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation (sig). Weiter dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

Betrachtet man lediglich die Patienten mit einem Morbus Crohn, so zeigt sich eine Zunahme der Signifikanz beim Vorliegen einer Mutation im *PNPLA3* Gen. Hier liegt die AP im Mittel bei 85,4 (± 28,4) beim Vorliegen einer Mutation [IM / MM] gegenüber 68,8 (± 22,6) beim Vorliegen des Wildtyps [II] (P = 0,006). Auch die GGT ist beim Vorliegen einer Mutation im *NOD2* (c3020iC) [IM / MM] mit 40,1 (± 25,2) gegenüber dem WT mit 28,8 (± 24,3) (P = 0,24) wie im Gesamtkollektiv signifikant erhöht.

	ALAT in U/L	ASAT in U/L	AP in U/L	GGT in U/L
***PNPLA3* (P)**				
p	0,396	0,242	**0,006**	0,076
WT (40)	27,6 ± 18,7	24,6 ± 7,7	68,8 ± 22,6	27,2 ± 20
mutiert [CG + GG]	29,2 ± 16,6	27,2 ± 9,9	85,4 ± 28,4	31,2 ± 17,7
Alle (70)	28,3 ± 17,7	25,7 3 ± 8,7	75,9 3 ± 26,4	28,9 ± 19
***NOD2* (c.3020iC)**				
p	0,258	0,283	0,498	**0,036**
WT (59)	26,8 ± 15,5	24,2 ± 8,5	76,2 ± 28,4	26,5 ± 16,3
mutiert [IM + MM]	36,1 ± 26,5	28,4 ± 9,8	74,1 ± 10,8	41,7 ± 27,3
Alle (70)	28,3 ± 17,7	25,7 ± 8,7	75,9 ± 26,4	28,9 ± 19

Tabelle 10. MW plus SD der Leberwerte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation bei MC-Patienten (sig).

Weiter Dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

4.5 Lipoproteine in Korrelation zur Genetik

Untersucht man die gemessenen Lipoproteine in Korrelation mit der Genetik weiter, so zeigt sich lediglich, dass HDL beim Vorliegen einer Mutation im *NOD2* (C3020iC) Lokus mit 49,2 (± 18,5) mg/dl gegenüber dem Wildtyp mit 58,2 (± 17,3) mg/dl (P = 0.049) im Gesamtkollektiv knapp signifikant erniedrigt (**Tabelle 11**). In der Betrachtung, lediglich der Morbus Crohn Patienten, ergaben sich keine Korrelationen (siehe **Tabelle 21.** im Anhang)

	Triglyceride in mg/dl	Cholesterin in mg/dl	LDL in mg/dl	HDL in mg/dl
***NOD2* (c.3020iC)**				
p	0,078	0,730	0,938	**0,049**
WT (74)	121,7 ± 80,8	171,3 ± 43,2	95,3 ± 39,2	58,2 ± 17,3
mutiert [IM + MM]	153,15 ± 79,4	166,7 ± 41,4	93,9 ± 31,2	49,2 ± 18,5
Alle (87)	126,4 ± 80,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 37,9	56,8 ± 17,7

Tabelle 11. MW plus SD des Fettstoffwechsels in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation.

Weiter dargestellt das entsprechende Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

4.6 Multivariate Analyse

Um die relevanten Prädiktoren für das Vorliegen einer SLD bei CED-Patienten zu identifizieren, wurden alle Werte, die zuvor Tendenzen bzw. signifikante Unterschiede zeigten, zunächst mit Hilfe von logistischen Regressionsanalysen zwischen analysiert. In den initialen Analysen wurden alle Variablen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.05$ in der bivariablen Analyse berücksichtigt.

Prädiktor	RQ	SE	OR	CI	P
Gewicht	0,079	0,021	1,082	1,039 - 1,127	**< 0,000**
BMI	0,192	0,049	1,21	1,100 - 1,334	**< 0,000**
ALAT (GPT)	0,047	0,016	1,048	1,916 - 1,081	**0,003**
ASAT (GOT)	0,085	0,033	1,088	1,021 - 1,161	**0,010**
GGT	0,026	0,011	1,026	1,004 - 1,049	**0,021**
Vitamin A	0,044	0,029	1,045	1,007 - 1,085	**0,021**
Vitamin E	0,003	0,001	1,003	1,001 - 1,004	**0,001**
Cholesterin	0,012	0,006	1,012	1,001 - 1,024	**0,039**
Triglyceride	0,014	0,004	1,014	1,006 - 1,022	**< 0,000**
Relativer Fettanteil (%kg)	0,088	0,027	1,092	1,035 - 1,152	**0,001**
Abs. Fettanteil (kg)	0,107	0,027	1,113	1,055 - 1,174	**< 0,000**
Extracellular water (l)	0,269	0,094	1,308	1,088 - 1,308	**0,004**
Energieverbrauch Ruhe (kcal) [(i)]	0,004	0,001	1,004	1,001 - 1,006	**0,003**
Fettmasse-Index (kg/m2) [(i)]	0,215	0,060	1,240	1,103 - 1,395	**< 0,000**
Fettfreiemasse-Index (kg/m2) [(i)]	0,334	0,123	1,396	1,097 - 1,778	**0,007**

Tabelle 7. Gezeigt werden die Ergebnisse der bivariablen Regressionsanalyse für das Vorliegen einer FL.

RQ-Regressionskoeffizient, SD-Standartabweichung, OR Odds-Ratio und CI und das dazugehörige 95%-Konfidenzintervall.

Die Auswahl der Variablen für die finale Regressionsanalyse erfolgte anhand eine Vorwärts- sowie schrittweisen Rückwärts-Selektion. Die ASAT, das Cholesterin, sowie die Triglyceride erwiesen sich in der Vorwärts Selektion, die ASAT, das Cholesterin, die Triglyceride sowie der absolute Fettanteil und der Fettmasse Index in der schrittweisen Rückwärts Selektion als unabhängige Prädiktoren (**siehe Tabelle 8 a und b**).

a)

Prädiktor	RQ	SE	OR	CI	P
ASAT (GOT) (U/L)	0,122	0,054	1,130	1,017 - 1,256	**0,023**
Cholesterin (mg/dl)	0,026	0,010	1,026	1,007 - 1,046	**0,008**
Triglyzeride (mg/dl)	0,012	0,005	1,012	1,002 - 1,022	**0,019**

b)

Prädiktor	RQ	SE	OR	CI	P
ASAT (GOT) (U/L)	0,148	0,059	1,159	1,033 - 1,302	**0,012**
Cholesterin (mg/dl)	0,033	0,012	1,034	1,009 - 1,059	**0,008**
Triglyzeride (mg/dl)	0,012	0,005	1,012	1,002 - 1,023	**0,023**
absoluter Fettanteil (kg)	0,359	0,135	1,432	1,100 - 1,864	**0,008**
Fettmasse Index (kg/m^2)	-0,698	0,317	0,497	0,267 - 0,925	**0,027**

Tabelle 8. Vorwärts (a) - sowie schrittweisen Rückwärts-Selektion (b) der in der logistischen Regressionsanalyse als signifikant dargestellten Werte. RQ-Regressionskoeffizient, SE-Standartabweichung. OR Odds-Ratio, und CI das dazugehörige 95%- Konfidenzintervall.

In die finale multivariate Regressionsanalyse wurden dann die ASAT, Cholesterin und die Triglyceride eingeschlossen.

Prädiktor	RQ	SE	OR	CI	P
ASAT (GOT) (U/L)	0,085	0,038	1,088	1,010 - 1,172	**0,026**
Cholesterin (mg/dl)	0,015	0,007	1,015	1,001 - 1,030	**0,038**
Triglyzeride (mg/dl)	0,011	0,004	1,011	1,004 - 1,019	**0,003**

Tabelle 9. Endgültige logistische Regressionsanalyse sowohl in der Vorwärts- als auch der selektiven Rückwärtselimination als signifikant dargestellten Werte. RQ-Regressionskoeffizient, SE-Standartabweichung. OR Odds Ratio und CI das dazugehörige 95%-Konfidenzintervall.

5. Diskussion

In unserer prospektiven monozentrischen Studie erfolgte die Erfassung von Patienten mit einer CED und der vergesellschafteten Lebererkrankungen mit dem Fokus auf das Vorliegen einer Steatose respektive SLD, sowie die Bestimmung häufiger genetischer Varianten für beide Erkrankungen. Zu diesem Zweck haben wir nicht-invasive Tests (Leber-Elastographie, Bioimpedanzanalyse) und Laborwerte mit der genetischen Analyse prosteatotischer und mit einer CED assoziierter Polymorphismen kombiniert.

5.1 SLD/MASLD

Die Fettlebererkrankung, SLD respektive MASLD ist inzwischen in der westlichen Welt die häufigste Lebererkrankung. Patienten mit SLD zeigen in der Sonographie eine "helle Leber" und haben keine anderen chronischen oder akuten Lebererkrankungen. Im Beobachtungszeitraum schlossen wir insgesamt 104 Patienten mit einer CED in unsere Kohorte ein. Von diesen wurde letztlich 87 Patienten analysiert. Wie in der Einleitung beschrieben subsumiert der Ausdruck SLD ein Spektrum an Lebererkrankungen, die mit einer vermehrten Fetteinlagerung, von größer 5% in der Leber vergesellschaftet sind. Das Spektrum letzterer reicht vormals von der benignen NAFL (non-alcoholic fatty liver) über die prognostisch schlechtere NASH (non-alcoholic steatohepatitis) hin zur Zirrhose und ihren Komplikationen wie der Dekompensation, sowie dem hepatozellulären Karzinom. Bei den meisten Patienten zeigt sich die NAFL/D respektive die MASLD nicht progressiv, jedoch kommt es bei weniger als 10% der Patienten zu einem Fortschreiten der Erkrankung, die durch einen lobuläre Inflammation und Apoptose gekennzeichnet ist und über eine zunehmende Fibrosierung in das Vollbild einer Leberzirrhose, mit allen damit verbundenen Komplikationen übergehen kann [3,25]. Aufschluss über den natürlichen Verlauf geben hier Daten aus Studien mit gepaarten Leberbiopsien. So konnte gezeigt werden, dass es bei Patienten mit einer NAFLD im Durchschnitt nach 14,3 und bei Patienten mit einer NASH im Schnitt nach 7,1 Jahren zu einer Zunahme der Fibrose aus dem Stadium 0 auf 1 kommt, wobei 4 das Vollbild einer Zirrhose darstellt [97]. Jedoch konnte in einer ähnlichen Studie auch gezeigt werden, dass es bei einem Teil der Patienten wieder zu einer Verbesserung des Fibrosesgrades über die Zeit kommen kann [44]. So erscheint der Verlauf der NAFLD inkonsistent und abhängig von verschiedenen Faktoren. Unabhängig davon ist jedoch, dass das Vorliegen einer fortgeschrittenen Fibrose im Stadium 3 und 4 einen starken prognostischen Marker für die Zunahme von leberassoziierten Komplikationen, sowie der Gesamtmortalität darstellt [102]. Die führenden Todesursachen bei Patienten mit einer NAFLD stellen kardiovaskuläre Ereignisse, aufgrund der hohen Koinzidenz des metabolischen Syndroms sowie dem Diabetes melitus Typ 2, gefolgt von extrahepatischen malignen Erkrankungen dar [46]. So liegt zum Beispiel das Risiko an Krebs, hier Darm-, Leber- und Uterustumoren zu erkranken bei NAFLD Patienten 1,9-fach höher als in der Allgemeinbevölkerung, wobei das alleinige Übergewicht nicht zu einer signifikanten Risikozunahme der beschriebenen Entitäten führt [5,82].

Der Haupttreiber der NAFLD respektive MASLD ist und bleibt die Hyperalimentation. Diese führt zu einer allgemeinen Vergrößerung der Fettdepots im Körper und zur Ansammlung von ektopem Fettgewebe, unter anderem in der Leber. Unter diesen Voraussetzungen kommt es zu einer Infiltration, vor allem des viszeralen Fettgewebes mit Makrophagen und in der Folge zu einem proinflammatorischen Zustand, der eine Insulinresistenz fördert. Diese wiederum führt zu einer fehlerhaften Lipolyse und zu einem erhöhten Einstrom von Fettsäuren in die Leber. Dieser Kreislauf sowie eine erhöhte de novo Lipogenese überfordert die metabolische Kapazität des Organs. Als Folge kommt es zur Bildung von lipotoxischen Lipiden und zu einer Zunahme des oxidativen Stresses, was letztlich über die Aktivierung von Inflammasomen und Apoptose fördernden Signalwegen zur Inflammation und schlussendlich bei einem Teil der Patienten zur Fibrogenese führt.
Dies veranschaulicht, dass die Leber, respektive die SLD eine wichtige Rolle im Wechselspiel der einzelnen Organsysteme beim metabolischen Syndrom und den damit assoziierten Erkrankungen spielt. Eine zentrale Rolle in der Verbindung der einzelnen Organsysteme miteinander, wird hier den Makrophagen und verwandten Zellen wie den Kupffer'schen Sternzellen in der Leber zugeschrieben. Diese Zellen bilden eine Art Schaltzentrale zwischen Signalen aus dem Darm, zum Beispiel beim Vorliegen einer Dysbiose im Rahmen einer verminderten Integrität der Darmbarriere, wie sie bei chronischen Darmerkrankungen vorliegt und dem damit verbundenen Anfall von Endotoxinen in der Leber und dem Fettstoffwechsel [54]. Dieses wechselhafte Zusammenspiel wird als Darm- Leber Achse bezeichnet. Die Häufigkeit der SLD in der Allgemeinbevölkerung ist hoch und steigend. So konnte Younossi et al. zuletzt 2023 in einer Metaanalyse aus 92 Studien und 9361716 eingeschlossenen Patienten zeigen, dass die Gesamtprävalenz einer NAFLD mehr als 30% beträgt. Weiter konnte er nachweisen, dass diese im Zeitraum zwischen 1990 und 2006 von 25,3 %, auf 38 % im Zeitraum von 2016 bis 2019 anstieg. Diese entspricht einer Zunahme von 50% weltweit in diesem Zeitraum, was die zunehmende Problematik verdeutlicht [116].

5.2 SLD bei CED-Patienten

Die Beziehung zwischen einer Steatosis hepatis und einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung wurde erstmals 1873 gesehen. Damals beschrieb Thomas den Zusammenhang zwischen „Ulzerationen des Dickdarms und einer stark vergrößerten Fettleber“ [105]. Zu dieser Zeit sicherlich eine Rarität, rückt die Steatose auch bei CED-Patienten in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus der Wissenschaft. Lebererkrankungen stellen generell eine häufige Komorbidität bei CED-Patienten dar, ihre Prävalenz kann bis zu 50% erreichen, wobei die NAFLD die häufigste und die PSC die spezifischste assoziierte Lebererkrankung ist [82]. Die zugrundeliegenden Mechanismen für das Vorliegen einer SLD bei CED-Patienten sind vielfältig [63]. Einzelne Studien weisen darauf hin, dass das Vorhandensein von klassischen Risikofaktoren wie Alter, Adipositas und das Vorliegen eines Diabetes Mellitus Typ 2, im Sinne eine MASLD für die Zunahmen der Steatose im Kollektiv der CED-Patienten verantwortlich sind

[59,117], wohingegen andere Studien den Fokus auf krankheitsspezifische Faktoren, wie die Erkrankungsdauer, den Grad der Aktivität oder die Rolle einer medikamentös vermittelten Toxizität lenken [29,101]. So liegt die Häufigkeit (Prävalenz) der NAFLD bei Patienten mit einer CED, nach aktuelle Datenlage, in einer Metaanalyse aus 118 Studien mit insgesamt 1729128 eingeschlossenen Patienten bei 26,1% [9]. Jedoch weist die Prävalenz, wie auch bei der NAFLD in der Allgemeinbevölkerung deutliche regionale Unterschiede auf und steigt von 13% in Asien über 31% in Europa auf 43% in den USA [54]. Vergleicht man die beschriebenen Häufigkeiten einer SLD mit denen in unserer Kohorte, so zeigt sich, dass der Anteil von CED-Patienten mit, gegenüber Patienten ohne eine SLD mit 26,4% gut korreliert. Jedoch lag ihr Anteil in ausgewählten Studien wie zum Beispiel in einer aktuell beschriebenen Kohorte in Italien, mit 40,4% deutlich höher [59]. Einschränkend sei hier auf unterschiedlichen Diagnosekriterien der Steatose in einzelnen angeführten Studien hingewiesen, so wurde diese z.B. in der aufgeführten Untersuchung lediglich mittels einer Abdomen Sonographie diagnostiziert. Seitz et al. konnten in einer zuletzt veröffentlichten Studie, die den Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer NAFLD bei 132 CED-Patienten, in einer deutschen Kohorte untersuchten zeigen, dass die Krankheitsdauer die einzige unabhängige Variable in der multivariaten Analyse war, die in Ihrem Kollektiv mit einer NAFLD assoziiert war [110]. Zum Nachweis der Steatose wurde hier die konventionelle Sonographie sowie eine Elastographie mit einem Grenzwert von ≥ 248 db/m verwandt. Patienten mit einer SLD waren auch in unserer Kohorte tendenziell, jedoch nicht signifikant älter, und hatten eine längere Krankheitsgeschichte. Dass die Erkrankungsdauer zu einer Zunahme der NAFLD Fälle bei CED-Patienten führt ist in der Literatur gut belegt. So zeigten Bessissow et al. in einer retrospektiven Studie über 3,2 Jahre, in der 321 Patienten eingeschlossen wurden einen Zusammenhang mit der Entwicklung einer NAFLD in Abhängigkeit von der Erkrankungsdauer, der Krankheitsaktivität, sowie von vorangegangenen chirurgischen Interventionen [10]. Zur Diagnose der NAFLD wurden in dieser Studie nichtinvasive Testverfahren, wie der Hepatic Steatosis Index (HSI ≥ 36), sowie der FIB4 (≥ 2,67) herangezogen. Eine Elastographie oder Sonographie wurde nicht durchgeführt. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Sourianarayanane et al., dieser zeigte bei 928 Patienten, dass CED-Patienten mit einer NAFLD älter waren und einen späteren Krankheitsbeginn aufwiesen. Als Diagnosekriterien wurden hier die Sonographie, CT- sowie MRT-Aufnahmen herangezogen. Bei 7,9% der Patienten lag eine Leberbiopsie, dem aktuellen Goldstandart, mit dem Nachweis einer Steatose vor [101]. Auch Palumbo et al. [92] und Trifan et al. [107] konnten zeigen, dass ein höheres Alter sowie ein höherer BMI mit einer Steatose assoziiert waren. Zum Nachweis wurde hier eine Elastographie eingesetzt und als Grenzwert ein CAP-Wert von ≥ 248 db/m und eine Lebersteifigkeit ≥ 7,0 kPA respektive ≥ 7,2 kPA angenommen. Eine weitere zuletzt erschienene Studie die die Häufigkeit einer NAFLD bei Patienten mit CED und einem Kontrollkollektiv untersuchte, zeigte zwar keine signifikante Häufung von Steatosen und Fibrosen in der CED-Gruppe, jedoch waren auch hier die Erkrankungsdauer, sowie das Alter signifikant mit dem Vorliegen einer NAFLD assoziiert und letztere wurde in der Gruppe der CED-Patienten schon bei einem signifikant niedrigerem BMI diagnostiziert. Das Vorliegen eines Morbus Crohns zeigte sich

als ein unabhängiger Risikofaktor für das Vorliegen einer signifikanten Fibrose [64]. Dem Gegenüber wird bei der Untersuchung ausgewählter nicht adipöser Patienten (BMI < 25kg/m^2), von derselben Gruppe eine signifikante Häufung von Steatose gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe beschrieben. Als Diagnosekriterien wurde in den beiden zuletzt beschriebenen Studien die Elastographie mit einem Grenzwert von ≥ 248 db/m für das Vorliegen einer Steatose sowie > 8 kPA für das Vorliegen einer Fibrose verwandt [65].

Unsere Daten und die beschriebenen Untersuchungen untermauern die Tatsache, dass die SLD eine häufige und wahrscheinlich zunehmende Komorbidität beim Vorliegen einer CED darstellt. Die beschriebenen Assoziationen lassen jedoch keinen klaren Rückschluss darüber zu, ob nun Patienten mit einer CED häufiger an einer Steatose leiden, als entsprechende Vergleichskollektive. Dies konnte jedoch Zamani et al., in einer Metaanalyse, die 44 Studien und insgesamt 14 947 Patienten aus 18 verschiedenen Ländern umfasste, darlegen. Hier war die Wahrscheinlichkeit eine NAFLD zu entwickeln bei CED-Patienten, gegenüber gesunden Patienten, um das Zweifache erhöht. In dieser Studie war das Alter sowie der BMI signifikant mit einem erhöhten Risiko für das Vorliegen einer NAFLD vergesellschaftet [117]. Das legt die Vermutung nahe, dass das Vorliegen einer CED, eine von der metabolischen Komponente unabhängige Variable in der Entwicklung einer SLD, in diesem Patientenkollektiv darstellt. Diese These bekräftigt eindrücklich eine Fall-Kontroll-Studie von Rodriguez-Duque et. al [85], mit 831 CED-Patienten und 1718 Probanden in der Kontrollgruppe. Diese zeigte, dass Patienten mit einer CED und einer NAFLD seltener einen Diabetes entwickeln, einen niedrigeren BMI aufwiesen, sowie einen niedrigeren Steatose Grad, als das entsprechenden Vergleichskollektiv hatte. Das Vorliegen einer CED selbst konnte als unabhängiger Risikofaktor für das Vorliegen einer NAFLD identifiziert werden. Zum Nachweis letzterer wurde hier ein CAP-Wert von ≥ 248 db/m und zum Nachweis einer Fibrose ein Wert von ≥ 7,2 kPA definiert. Weiter erfolgte bei Patienten mit einer mutmaßlichen Fibrose die Durchführung einer Leberbiopsie.

Unserer Daten lassen, bei fehlendem Vergleichskollektiv leider keinen Rückschluss darüber zu, ob CED-Patienten häufiger oder früher eine SLD entwickeln. Die gezeigten Daten führen jedoch zu der Frage ob und wie die CED selbst zu einem unabhängigen Faktor für die Entwicklung einer SLD sein könnte. Im Vordergrund steht hier möglicherweise die schon oben erwähnte Darm- Leber-, oder im weiteren Sinne die Mikrobiom-Darm-Leber-Hirn-Achse. Darunter wird das enge, komplexe und bidirektionale Zusammenspiel des im Darm befindlichen Mikrobioms mit dem enterischen- (ENS), dem autonomen- (ANS), der Neuroimmunität des zentralen Nervensystems (ZNS) sowie dem neuroendokrinen System (NES) subsumiert. Das Mikrobiom des Menschen, das sich nach aktuellem Stand in einem Verhältnis von 1:1 von Mikroorganismen zu den Zellen des menschlichen Körpers bewegt und dessen Mehrzahl im Darm zu finden ist [95], ist ein dynamisches und hochkomplexes System, dessen Dichte und Zusammensetzung durch eine Vielzahl von exogenen und endogenen Faktoren bestimmt wird [57]. So produziert das Darmmikrobiom bioaktive Peptide, Neurotransmitter, kurzkettige Fettsäuren (SCFAs: short chain fatty acids), Aminosäuren, Darmhormone und ist an der

sekundären Umwandlung von abgegebenen Gallensäuren beteiligt [58]. Die Leber steht über die Pfortader, das Gallengangssystem sowie dem Blutkreislauf in einer engen Interaktion mit dem Darm. So werden zum Beispiel sogenannte MAMPs (microbial-associated molecular patterns) und PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) also mikrobiomassozierte Moleküle über das Pfortadersystem in die Leber gebracht und interagieren dort mit entsprechenden Rezeptoren. Parallel dazu transportiert das Gallengangssystem in der Leber produzierte Gallensalze und antimikrobielle Substanzen (AMPs: antimicrobial peptides) in das Darmlumen um dort eine Eubiose aufrecht zu erhalten und eine ungebührliche Vermehrung möglicherweise darmpathogener Keime zu vermeiden. Eine weitere, und in unserem Kollektiv sicherlich wichtige Rolle, spielt die Intestinale Permeabilität. Diese wird vorwiegend von Enterozyten getragen, welche über junktionale Adhäsionsproteine, Desmosomen, Occludinen und Cadherinen untereinander verbunden sind. Diese so gebildete Barriere schränkt die Bewegungsfreiheit von Mikroorganismen und Molekülen aus dem Darm in den Organismus stark ein, während die semipermeable Aufnahme von Nährstoffen aktiv über sogenannte „tight-juctions“ gewährleistet wird. Die Darmbarriere wird durch weitere Schutzmechanismen verstärkt. So bilden, von Becherzellen produzierte Muzine (vom lat. mucus Schleim) eine physikalische Barriere zwischen dem Mikrobiom und den darunterliegenden Epithelzellen des Darmes. Von Paneth-Zellen des Darmes werden antimikrobiell wirkende Lektine produziert und von Plasmazellen sekretorische Immunglobuline, führende IgA die ins Darmlumen abgegeben werden. Und letztlich sind kommensale Bakterien eng mit der Darmmukosa assoziiert und verstärken die Integrität der Barriere, indem sie die zellvermittelte Immunität des Darmes über Tolllike Rezeptoren (TLR) stimulieren [108]. Neben diesen Mechanismen wird auch eine direkte Verbindung und Modulation zwischen ZNS und NES über das vagale System postuliert. So exprimieren vagale afferente Neurone Rezeptoren für Darmpeptide wie z.B. Cholecystokinin, Leptin, glucagon-like peptide-1 (GLP-1) und 5-hydroxytryptamine (5-HT; Serotonin), die von endokrinen Zellen, die zum NES gehören, ausgeschüttet werden. Die Ausschüttung wiederum kann vom Mikrobiom beeinflusst werden und hat so über afferente vagale Nerven direkten Einfluss auf den Darmstoffwechsel [114]. Alle diese Mechanismen veranschaulichen das komplexe Zusammenspiel der Mikrobiom-Darm-Leber-Hirn-Achse.

Die CED ist durch eine entzündliche Veränderung des Darmes, beim MC transmural und bei der CU auf das Darmepithel beschränkt definiert. Die Störung oder ein Zusammenbruch einer oder mehrerer der oben beschriebenen Schutzmechanismen, die beim Vorliegen einer CED zu postulieren sind, beeinträchtigt und verändert die Integrität der Darmbarriere und folglich die intestinale Permeabilität. Diese führt mutmaßlich zu einem vermehrten und oder veränderten Eintrag von mikrobiellen Substanzen und proinflamatorischen Mediatoren über die Pfortader und das Blutsystem in die Leber. Zusammen mit den bekannten Risikofaktoren wie der Insulin Resistenz, dem oxidativen Stress, Veränderungen im Lipidstoffwechsel, sowie der Freisetzung inflammatorischer Zytokine aus dem Fettgewebe, kommt es so wahrscheinlich zu einer Aggravation der chronischen Inflammation vor allem in der Leber und möglicherweise in Wechselwirkung wiederum zu Veränderungen im Mikrobiom des

Darmes. So konnte gezeigt werden, dass letzteres bei CED-Patienten verändert ist. In der Übersichtsarbeit von Rapat Pittayanon et. al wurde 48 Studien analysiert, die Veränderungen einzelner Spezies im Mikrobion zwischen Gesunden und CED-Patienten untersucht haben. In den eingeschlossenen Studien konnte teils eine Verschiebung des Mikrobioms beobachtet werden, auch war in einigen Studien die Diversität des Mikrobioms bei CED-Patienten gegenüber den Kontrollgruppen erniedrigt. Obwohl die Hypothese, dass das Mikrobiom bei der Genese der CED eine ursächliche Rolle spielt verlockend erscheint, beschreiben die in der Übersichtsarbeit dargestellten Ergebnisse lediglich Assoziation und keinesfalls Kausalitäten. Letztlich bleibt unklar, ob die gesehenen Veränderungen einen Auslöser oder eine Folge der CED darstellen [79]. Bemerkenswert ist jedoch in diesem Zusammenhang, dass in der Studie von Rodriguez-Duque et. al [85] Patienten mit MC, möglicherweise aufgrund der Pathogenese im Sinne eines transmuralen Befalls und damit einem höheren Eintrag von Endotoxinen und Mediatoren in die Leber, ein höheres Risiko hatten eine SLD zu entwickeln. Die in unserer Kohorte erhobenen Befunde lassen jedoch bei fehlenden Stuhlanalysen keine entsprechenden Schlussfolgerungen zu. Neben dem für die Pathogenese sowohl der SLD als auch CED unklaren Rolle des Mikrobioms gibt es jedoch für bestimmte genetische Polymorphismen bezüglich der Entwicklung einer Steatose oder einer CED bessere Evidenz.

5.3 Rolle genetischer Mutationen

So sind Genvariationen im *PNPLA3*-, *TM6SF2*- und *MBOT7*-Gen wie in der Einleitung beschrieben mit einer Häufung einer Steatose in der Allgemeinbevölkerung vergesellschaftet. Die Rolle des *PNPLA3* Gens im Zusammenhang mit der Entwicklung einer Steatose in der Allgemeinbevölkerung sind gut untersucht. Schon 2008 konnte Romeo et al. in einem Kollektiv von 9229 Patienten erstmalig zeigen, dass eine Mutation im *PNPLA3* (rs738409) Gen mit einer Zunahme des Fettgehaltes in der Leber vergesellschaftet ist [87]. Interessanterweise konnte in der Studie auch gezeigt werden, dass das Vorliegen einer zweiten Mutation (*PNPLA3* rs6006460) die häufig bei Afroamerikanern (MAF 0,0104) und seltener bei europäisch- (MAF 0,003) und hispanisch stämmigen (MAF 0,008) Probanden auftrat, unabhängig vom Vorliegen der ersten Mutation mit einem erniedrigten Fettgehalt der Leber assoziiert ist. Die entsprechende Mutation wurde jedoch in unserer Kohorte nicht untersucht, verdeutlicht aber die Komplexität der entsprechenden Interaktionen der Genprodukte und untermauern die Annahme, dass eine Veränderung im *PNPLA3* Gen sowohl zu einem Funktionsverlust, als auch zu einer Funktionsverbesserung, im Zusammenhang mit dem Fettgehalt in Leberzellen, führen kann. Zum Nachweis der Steatose wurde in dieser Studie eine Magnetresonanztomographie der Leber durchgeführt. Interessanterweise ergab sich keine Assoziation der Mutation im *PNPLA3* Gen zum BMI, zu Veränderungen im Glucose- und Insulinstoffwechsel oder dem Fettstoffwechsel. Die erhobenen Daten konnten in der Folge von anderen Gruppen bestätigt und ergänzt werden. Neben dem Nachweis, dass das Vorliegen einer Mutation im *PNPLA3* (rs738409) Gen auch mit einer Zunahme der histologischen Schädigung beim Vorliegen einer NAFLD assoziiert ist [101] konnten Sookoian et. al. in einer

Metanalyse weiter zeigen, dass das Vorliegen der Mutation auch zu einem aggravierten Verlauf führt [100]. So zeigte die Metanalyse, in die 16 Studien einflossen, dass die Probanden beim Vorliegen einer homozygoten Mutation, im Vergleich zum Wildtyp, einen um 73% höheren Fettanteil der Leber (2937 Patienten) hatten und sowohl das Risiko einer Inflammation (3,24 Fach) als auch das einer Progression der NAFLD hin zur Fibrose (3,2 Fach) erhöht war. In der Regressionsanalyse war dieser Effekt für Männer weniger stark ausgeprägt. Und auch eine zuvor beschriebene ALAT-Erhöhung bei diesen Patienten konnte bestätigt werden.

In unserer Kohorte zeigte sich, in der Korrelation mit den gemittelten CAP-Werten, eine Tendenz im Sinne einer Zunahme letzterer beim Vorliegen eines Wildtyps [II], gegenüber dem Vorliegen eines heterozygoten Typs [IM] hin zu einem homozygot mutierten [MM] *PNPLA3* Gens. In der Subgruppe der MC Patienten war das Vorliegen einer Mutation im *PNPLA3* Gen signifikant mit dem Vorliegen einer Steatose, unter dem von uns verwandten Grenzwert, assoziiert. Im Gesamtkollektiv wurde das Signifikanzniveau nicht erreicht. Auch bei der Analyse der Leberwerte zeigte sich eine Tendenz, so waren die ALAT, die ASAT sowie die AP beim Vorliegen eines mutierten Gens gegenüber dem Wildtyp erhöht, jedoch erreichte lediglich die Alkalische Phosphatase Signifikanzniveau. Letzteres nahm in der Subgruppe der MC Patienten noch zu. Bei der GGT zeigte sich keine Tendenz und auch die Analyse der Fette ergaben sich keine Tendenzen. Unserer Daten legen den Schluss nahe, dass das Vorliegen der untersuchten Mutation auch bei Patienten mit MC zu einer Zunahme der Steatose führen könnte. Dies und die Tatsache, dass der Effekt schon in unserer kleinen Kohorte nachweisbar ist, könnten die Daten von Mancina et al. untermauern. Diese konnten zeigen, dass CED-Patienten die den Genotyp PNPLA3 148M tragen, ein höheres Risko für das Vorliegen einer Steatose, sowie eine erhöhte ALP zu einem Vergleichskollektiv aufwiesen. Als Untersuchungsmethode kamen hier neben der Sonographie die Elastographie und die Bestimmung der Leberenzyme zum Einsatz. Untersucht wurden zwei Kohorten mit jeweils 158 (Catazaro Kohorte) und 207 (Milan Kohorte) Patienten. Im Vergleich zu unserer Kohorte waren MC Patienten mit einem Drittel eher unterrepräsentiert. Einschränkend muss erwähnt werden, dass nur in einer Kohorte (Catazaro), das Vorliegen des Genotyps I148M beim Vorliegen einer Steatose Signifikanzniveau erreichte, die ALAT war in beiden Kohorten signifikant erhöht, ein Kontrollkollektiv wurde nicht herangezogen [60].

Ein weiteres Risikogen für das Vorliegen einer Steatose konnte in einer Variante des Transmembrane-6-superfamily 2 Gens (*TM6SF2*) (rs58542926) identifiziert werden. Wie auch das *PNPLA3*- ist das *TM6SF2*-Gen eng mit dem metabolischen Syndrom und dem Vorliegen einer Steatose assoziiert. So konnten Goffredo et al. 2016 in einer großen Kohorte von 957 Kindern erstmalig zeigen, dass eine Mutation im *TM6SF2* Gen mit einem erhöhten Fettanteil bei europäischen-, afroamerikanischen- sowie mit einer erhöhten ALT bei hispanischen Probanden assoziiert war. Zur Bestimmung des Fettgehaltes der Leber wurde in dieser Studie vorwiegend die Magnetresonanztomographie eingesetzt und nur ein kleiner Teil der Patienten wurde leberbiopsiert. In dieser kleinen Gruppe (n:11), die den aktuellen Gold-Standard erfüllte zeigte sich auch eine höhere Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer Fibrose beim

Vorliegen eines Minor-Alles. Neben der NAFLD untersuchte die Gruppe auch den Lipidstoffwechsel der Patienten und konnten zeigen, dass europäisch und hispanische Probanden einen signifikant niedrigeren Cholesterinspiegel, sowie LDL- und vLDL- Spiegel aufwiesen. Erwähnenswert ist, dass bei der Berechnung eines genetischen Risikofaktors, bei dem die Minor Allele im *TM6SF2*, *PNPLA3* und *GCKR*, einem weiteren untersuchten Gen, addiert und diese ins Verhältnis zum Fettgehalt der Leber gesetzt wurden, unabhängig von Alter, Geschlecht und BMI mit einer Erhöhung von letzteren assoziiert waren [31]. In der Folge konnten die erhobenen Befunde weitestgehend reproduziert werden. Das zeigt die Metaanalyse von Xue-Ying Li et al. [53]. In diese flossen 44 Studien mit insgesamt 123800 Probanden ein. Das Vorliegen des Minor-Allels [T] rs58542926 war mit einem erhöhten Risiko für das Vorliegen einer NAFLD, sowohl bei Erwachsenen als auch Kindern, assoziiert, wobei dieses bei Letzteren stärker ausgeprägt war. Weiter zeigten sich einer stärkeren Progression und höheren Fibrose Stadien bei Erwachsenen. Eine ALT Erhöhung konnte nur bei Erwachsenen nachgewiesen werden, als möglicher Grund wurde hier die zunehmende Leberschädigung bei Trägern des Minor Alles diskutiert. Weiter konnte gezeigt werden, dass das [T]-Allel signifikant negativ mit dem Gesamtcholesterin, dem Low-Density-Lipoprotein (LDL) und den Triglyceriden (TG), sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern, assoziiert ist. Das Vorliegen des T-Allels hatte in beiden Gruppen keinen Einfluss auf das HDL, was mit einem anderen Synthese- und Transportmechanismus des HDL, im Gegensatz zu LDL und der TG, begründet wurde. Eine weitere Metaanalyse von Sookoian et. al, die Daten von 10 Studien mit insgesamt 101326 Probanden auswertete und sich mit dem kardiovaskulären Risiko im Sinne einer Dyslipidämie der Allelträger befasste konnten zeigen, dass das Vorliegen des T-Alles letztlich einen protektiven Effekt auf das kardiovaskuläre Risiko, im Sinne von erniedrigten LDL- und TG-Spiegeln hat, jedoch mit einem häufigeren Auftreten einer Steatose vergesellschaftet ist. Dieses liegt beim Vorliegen von [CT und TT] Genotypen um das 2,13-fache höher. Eine entsprechende Tendenz hin zu erniedrigten Triglyceriden beim Vorliegen einer entsprechenden Mutation [CT und TT] gegenüber dem Wildtyp [CC], konnten wir auch in unserer Kohorte sehen. Jedoch erreichte diese kein Signifikanzniveau. Dies erklärt sich möglicherweise aus der Tatsache, dass der Effekt der rs58542926 Variante verglichen mit Mutationen im *PNPLA3* (rs738409) Gen, bei der das Risiko für die Entwicklung einer NALFD um das 3,26-fache erhöht ist, unter Berücksichtigung der Häufigkeiten der entsprechenden Genmutationen, gering ist [101].

Ein weiteres Risikogen für das Vorliegen einer Steatose ist eine Variante des *MBOAT7* Gens, rs641738 (g.54173068 C>T) auf dem Chromosom 19. Erstmals 2015 bei Patienten mit einer alkoholischen Zirrhose beschrieben [14], konnte in der Folge in einer amerikanischen Kohorte mit insgesamt 2736 Patienten die eine MRT-Untersuchung erhielten, gezeigt werden, dass das Vorliegen der Minorvariante [CT und TT] mit einem erhöhten Fettgehalt in der Leber assoziiert war. Der Effekt wurde jedoch nur in signifikanter Höhe für Probanden mit europäischer Herkunft gezeigt, so war bei diesen das zu erwartendes Risiko pro vorhandenem Allel, gegenüber anderen ethnischen Gruppen (afrikanisch, hispanisch), signifikant erhöht [61]. Obwohl die Ergebnisse in folgenden Studien nicht immer konsistent

waren [114], zeigte zuletzt eine Metaanalyse aus 42 Studien mit insgesamt 1066175 Teilnehmern, von denen 9688 biopsiert wurden, ähnliche Ergebnisse. Die meisten hierbei eingeschlossenen Studien wurden bei Erwachsenen (32/42 76%) und vorwiegend in kaukasischen Populationen (26/42 62%) durchgeführt und in 14 Studien lagen Ergebnisse von Leberbiopsien vor. Das Vorliegen einer homozygotem Minorvariante [TT] war assoziiert mit einem höheren Fettgehalt der Leber, dem Vorliegen einer fortgeschrittenen Fibrosierung, einer erhöhten ALT und erniedrigten Triglyceriden im Serum. Obwohl signifikant wurde der Effekt von den Autoren jedoch als gering verglichen mit Mutationen in *PNPLA3* und *TMSF2* beschrieben [103]. In unserer Kohorte zeigte sich lediglich bei den Triglyceriden formal eine Tendenz für erniedrigte Werte beim Vorliegen einer Minorvariante [CT und TT], das Signifikanzniveau wurde jedoch nicht erreicht, die Tendenz verringerte sich bei der Analyse lediglich der MC Patienten jedoch deutlich.

Neben den oben beschriebenen Risikogene für die Entstehung respektive das Vorliegen einer SLD untersuchten wir die Probanden unserer Kohorte auch auf das Vorliegen einer Mutation im *NOD2* Gen. Aktuell werden 2404 *NOD2* Varianten mit ihren spezifischen Phänotypen spezifiziert [42]. Von diesen sind die von uns untersuchten Varianten, SNP13 im Exon 11 (c.3019_3020insC, p.Leu1007fs), SNP8 im Exon 4 (c.2104C > T, p.Arg702Trp) und SNP 12 im Exon 8 (c.2722G > C, p. Gly908Arg), mit dem Vorliegen eines Morbus Crohns und entsprechend komplizierteren Verläufen assoziiert [43]. Für die CU ist die Evidenz schwächer, so zeigt z.B. eine Studie aus Portugal, dass das Vorliegen entsprechender Mutationen nicht mit einer Häufung der Erkrankung, jedoch mit einem komplizierteren Verlauf assoziiert ist [28].

Weniger untersucht ist speziell die Rolle des *NOD2* Gens in Zusammenhang mit der Entwicklung einer Steatose. Aktuell gibt es wenig Evidenz dafür, dass die von uns untersuchten Mutationen mit einem erhöhten Risiko für das Vorliegen eines metabolischen Syndroms vergesellschaftet sind [73]. Jedoch gibt es Hinweise darauf, dass die Genprodukte (hier NOD1 und NOD2) neben ihrer klassischen Rolle in der Erkennung von bakteriellen Zellstrukturen zumindest eine Rolle als Mediator im Rahmen von Erkrankungen aus dem Formenkreis des Metabolischen Syndroms spielen. So konnte gezeigt werden, dass die Genprodukte von NOD2 in Monozyten bei Typ 2 Diabetikern in Assoziation mit einer schlechteren BZ-Kontrolle stehen [96]. Weiter konnte im Tierversuch nachgewiesen werden, dass Knockout-Mäuse ohne das *NOD2* Gen unter einer NAFLD fördernden Diät häufiger eine Steatose, respektive Fibrose, entwickeln als Mäuse mit dem entsprechenden Gen [41].

Bei der Analyse unserer Daten zeigte sich beim Vorliegen einer Mutation im Exon 11 (c.3020iC) im Gesamtkollektiv eine Tendenz zu erhöhten Leber- und Cholestasewerten, welche bei der GGT Signifikanzniveau erreicht. Letzter bleibt auch bei der Analyse lediglich der MC Patienten nachweisbar. Bei der Analyse des Fettstoffwechsels zeigt sich, dass HDL beim Vorliegen einer Mutation knapp signifikant erniedrigt und bei den Triglyceriden zeigen sich tendenziell höhere Werte. Die Signifikanz bei den erniedrigten HDL-Werten verlor sich bei erhaltender Tendenz in der Subgruppe der MC Patienten. Entgegengesetzte Tendenzen zeigten sich bei einer Mutation im Exon 4 (p.R702W), hier

waren die Triglyceride, das Cholesterin sowie die LDL beim Vorliegen einer Mutation tendenziell erniedrigt. Bei keinem CU-Patienten konnte eine entsprechende Mutation nachgewiesen werden. Bei den Leberwerten zeigte sich beim Vorliegen einer Mutation lediglich bei der AP eine Tendenz zu höheren Werten. Bei einer Mutation im Exon 8 (p.G908R) zeigte sich eine Tendenz zu höheren Cholestasewerten die erreichten jedoch wiederum kein Signifikanzniveau und bei den Fettstoffwerten sahen wir eine Tendenz zu erniedrigten Cholesterinwerten und Triglyceriden sowie einer erniedrigten LDL- und HDL-Konzentration.
Die erhobenen Daten legen die Vermutung nahe, dass das Vorliegen entsprechender Mutationen im *NOD2* Gen unter Berücksichtigung einer zugrundeliegenden entzündlichen Aktivität bei CED-Patienten einen Einfluss auf die Entwicklung einer Steatose in diesem Patientenkollektiv haben könnte. Die Datenlage hierzu ist aktuell dürftig, jedoch verdichten sich die Hinweise, dass die Familie der NOD like Rezeptoren, zu denen auch NOD2 gehört eine Rolle in der Entwicklung der Adipositas und assoziierter Erkrankungen spielt [8].

5.4 Laboranalytik

Die Laboranalytik der klassischen einzelnen Leberwerte spielt in der Diagnose der SLD obwohl häufig erhöht, sowie bei CED-Patienten als Einzelwerte, eine untergeordnete Rolle. In einer Studie konnten z.B. Sonsuz A et al. keine Korrelation zwischen den Transaminasen ALAT und ASAT zur histopathologischen Schädigung der Leber bei NAFLD Patienten nachweisen [98]. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Fracanzani et. al. in einer Arbeit die das Risiko einer schweren Leberschädigung bei NAFLD Patienten mit normalen Transaminasen untersuchte [27]. Auch bei Patienten mit einer CED werden häufig erhöhte Leberwerte nachgewiesen. So konnten z. B. Parisi et. al in einer Studie, in der der Einfluss von Infliximab auf die Leberenzyme untersucht wurden zeigen, dass die ALT bei 36,4% der 305 eingeschlossenen Patienten erhöht war. Der Anteil der MC Patienten war in dieser Studie mit 73% mir denen in unserer Kohorte (80,5%) vergleichbar und auch hier wurden Patienten mit einer zugrundeliegenden Lebererkrankung ausgeschlossen. Eine Differenzierung bezüglich des Vorliegens einer NAFLD erfolgte lediglich bei den Patienten mit einer ALT Erhöhung von ≥ 3 des oberen Grenzwertes und zeigte, dass bei 41% dieser Patienten sonographisch und MRT morphologisch eine Fettleber vorlag [76]. In unserer Kohorte lag der Anteil der Patienten mit einer Steatose im Gesamtkollektiv mit 26,4% niedriger. Bei diesen zeigte sich jedoch die ALT, ASAT sowie die GGT signifikant gegenüber Patienten ohne eine Steatose erhöht. Es muss jedoch angemerkt werden, dass neben dem Vorliegen einer CED auch nach Ausschluss der „klassischen Gründe“ für erhöhte Leberwerte, wie in unserer Kohorte, geschehen viele weitere Faktoren für das Vorliegen selbiger bei CED-Patienten verantwortlich gemacht werden. Darunter fallen zum Beispiel die Erkrankungsdauer, und -art (MC vs. CU) und die Rolle der eingenommenen Substanzen. Erschwerend kommt hinzu, dass es sich beim MC und der CU um Erkrankungen handelt die schubweise verlaufen und somit auch postuliert werden muss, dass es sich teileweise nicht um anhaltende Veränderungen handelt. So

normalisierte sich die ALT in oben beschriebener Studie von Parisi et. al bei 76% der mit Infliximab behandelten Patienten im Verlauf. Ob es sich dabei um eine selektive Wirkung von Infliximab, um eine Reduktion der Krankheitsaktivität spontan oder unter Therapie, oder den Einfluss weiterer therapeutischer Maßnahmen handelt, bleibt unklar. Neben den klassischen Laborwerten erfolgte bei unseren Probanden auch eine Analyse bezüglich des Vitaminstatuses. Hier zeigte sich bei Patienten mit einer Steatose das Vitamin A und E erhöht, sowie das Vitamin B6 signifikant erniedrigt waren. Eine gute Übersicht zum Vitamin A Stoffwechsel bei NAFLD bietet eine Übersichtsarbeit von Ali Saeed et. al. [90]. Unsere Ergebnisse zum Vitamin A Spiegel sind widersprüchlich, so ist zumindest bei Patienten mit einer morbiden Adipositas und NAFLD eine inverse Abhängigkeit zwischen dem Vitamin A Spiegel und dem BMI-Index mit einer entsprechenden Erniedrigung beschrieben ist [12] und auch in einem weiteren Kollektiv war die Retinol Säure, einem aktiven Metaboliten von Vitamin A bei Patienten mit einer NAFLD oder einer NASH erniedrigt [55]. Auch bei Patienten mit CED sind entsprechende Erniedrigungen beschrieben, so wurde ein Mangel an Vitamin A und E bei Kindern und heranwachsenden 1998 von Bousvaros et. al nachgewiesen, hier zeigte sich ein inverses Verhältnis zur Krankheitsaktivität [92]. Eine weitere Studie aus den USA die 126 CED-Patienten, hinsichtlich ihrer Ernährung, sowie ihres Vitaminstatus untersuchte zeigte, dass sowohl das Vitamin A, B6 als auch E bei diesen Patienten erniedrigt war [109]. In dieser Studie sah man einen Trend hin zu einem niedrigeren BMI bei Patienten mit MC gegenüber CU-Patienten. Das Vorliegen einer NAFLD wurde nicht untersucht. Der Nachweis eines erniedrigten Vitamin A Spiegels ist konsistent zu früheren Studien, so wurde schon 1983 ein Vitamin A Mangel bei MC beschrieben. Einschränkend muss jedoch angemerkt werden, dass zu diesem Zeitpunkt die therapeutischen Möglichkeiten deutlich beschränkt waren, was sich auch am hohen Anteil untergewichtiger Patienten in dieser Studie niederschlägt [6].

Das fettlösliche Vitamin E wirkt als Antioxidans und die Substitution zeigten in einzelnen Studien vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung der NAFLD [50,51]. Die Substitution wird daher, von der Amerikanischen Fachgesellschaft als mögliche Therapieoption bei Patienten ohne Zirrhose oder Diabetes empfohlen [84], die Empfehlung wird jedoch von Seiten der Europäischen Fachgesellschaften aktuell nicht geteilt [86]. Daten zu einem entsprechenden Defizit bei CED sind selten, es konnte zumindest bei Kindern und jungen Erwachsenen bei 5% der untersuchten Patienten ein entsprechender Mangel nachgewiesen werden [4,86]. Aufgrund vielversprechender Ergebnisse vor allem aus Tiermodellen wurde eine Supplementierung mit Vitamin E auch zur Behandlung von CED-Patienten als mögliches Therapeutikum diskutiert [113]. Entsprechende Studien aus den Jahren 2003 und 2008 [1,69] am Menschen waren jedoch klein und hatten nur einen relativ kurzen Nachbeochtungszeitraum. Studien aus den letzten Jahren fehlen. Daten zu absoluten Vitamin B6 Spiegeln bei Patienten mit NAFLD konnten nicht gefunden werden. Der Vitamin B6 Substitution wurde jedoch unabhängig von einem Mangel bei NAFLD eine protektive Wirkung, hinsichtlich einer Steatose, zugeschrieben. So wurden in einer Studie 24 NAFLD Patienten 12 Wochen lang mit 90mg/d Vitamin B6 substituiert. Es

zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der Leberwerte oder des BMI, jedoch eine Reduktion der Lebersteatose. Zur Beurteilung letzterer wurde die MRT Elastographie eingesetzt [45].
Für Patienten mit einer CED hingegen konnten erniedrigte Vitamin B6 Spiegel im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv nachgewiesen werden. In einer Studie von Saibeni et.al. [91] waren erniedrigte Spiegel häufiger bei Patienten mit einer aktiven Erkrankung vorzufinden und korrelierten invers mit dem CRP-Werten. Letztlich sind die in unserer Kohorte gesehenen erhöhten Spiegel beim Vitamin A und E widersprüchlich zur Literatur, da sowohl für die NAFLD als auch der CED erniedrigte Werte vorbeschriebenen werden. Die erniedrigten Vitamin B6 Werte sind sowohl für die NAFLD als auch für die CED konkordant. Ein Vergleich der Vitaminspiegel in einer CED-Kohorte, differenziert nach dem Vorliegen einer SLD, ist nach unserem Stand aktuell noch nicht beschrieben worden.

5.5 Funktionelle Untersuchungen (Elastographie/BIA-Messung)

Aufgrund der Definition der SLD respektive der NAFLD mit dem Nachweis von > 5% Fettanteil in der Leber, ist aktuell die Leberbiopsie noch der Goldstandart der Diagnose [62,83]. Diese ist aber invasiv und somit mit Komplikationen wie Schmerzen, Blutungen und auch, wenn auch selten mit Todesfällen verbunden [104]. Dies, sowie die eingeschränkte Akzeptanz, Wiederholbarkeit zur Verlaufskontrolle, ein gewisser Stichprobenfehler, sowie der hohen mit der Biopsie verbundenen Kosten, machen die Methode, in Anbetracht der schieren Massen an Betroffenen unpraktikabel. Daher sind nichtinvasive Methoden zur Detektion und zur Differenzierung der möglichen Verlaufsformen notwendig. Ein zunehmender Stellenwert kommt hier der Elastographie zu. Hierbei unterscheidet man Ultraschall- und magnetresonanzbasierte Methoden. Wobei letztere, auch unter dem Kostenaspekt, nicht in breiter Masse einsetzbar ist. Bei den ultraschallgestützten Methoden kann man zwischen der klassischen Sonographie und der CAP- Messung unterscheiden. Bei ersterer erfolgt die Einteilung des Steatosegrades der Leber visuell. Typische Merkmale sind eine vermehrte Echogenität des Leberparenchyms, im Vergleich zum Nierenparenchym, eine distale Abschwächung und der Nachweis typischer fokaler Minderverfettungen im Leberparenchym. Eine Gradeinteilung erfolgt dann in leicht, mittel und schwer, je nach dem Vorliegen einzelner Stigmata. In einer Metanalyse aus insgesamt 49 Studien und 4720 eingeschlossenen Probanden zeigte, sich eine Sensitivität von 84,8% und eine Spezifität von 93,6% bei der Detektion einer moderaten bis schweren Steatose (20%-30% Fettanteil) im Vergleich zur Biopsie [36]. Die Einschränkung der Methode liegt jedoch in der Tatsache begründet, dass bei Patienten mit einer milden und leichten Steatosis, die Sensitivität der Methode deutlich sinkt. So nahm diese bei einem Fettgehalt von < 12, 5 % gegenüber Untersuchung mittels MRT sowie der Histologie in einer Untersuchung von Bril et al. in einem Kollektiv von 146 übergewichtigen NAFLD Patienten deutlich ab [13]. Trotz dieser Tatsache ist der konventionelle Ultraschall aufgrund seiner weiten Verfügbarkeit, einfachen Handhabung und der geringen Kosten ein wichtiges Diagnostikum zur Detektion einer Steatose in der breiten Masse, mit einer entsprechenden Empfehlung zum frühen Einsatz in den aktuellen Leitlinien [64,83]. Eine Weiterentwicklung stellt die schon oben beschriebene und in unserer Studie eingesetzte

CAP-Messung dar. Deren Anwendung wurde erstmals von Sasso 2010 in einem Kollektiv chronisch leberkranker Patienten validiert [93]. Ähnlich wie bei der konventionellen Sonographie ist ein Kritikpunkt, dass die Messung zwar gut eine moderate bis höhergradige Steatose detektiert, jedoch schlecht die einzelnen Steatose Grade differenziert. In einer Metaanalyse von Kalas et al., aus 19 Studien und 2735 eingeschlossenen Probanden, davon 537 NAFDL Patienten wurden optimale Grenzwerte von 248 dB/m (95% CI, 237-261 dB/m), 268 dB/m (95% CI, 257-284 dB/m) bzw. 280 dB/m (95% CI, 268-294 dB/m) für die unterschiedlichen Steatose Grade (S1, S2, S3) vorgeschlagen. Der genannte Grenzwert von 248 dB/m wurde in den meisten oben zitierten Studien verwandt. Weitere Metaanalysen zeigten jeweils andere Grenzwerte, eine entsprechende Übersicht zeigt die Übersichtsarbeit von Ozercan et.al. [74]. Somit gibt es aktuell keinen allgemein anerkannten Grenzwert zum Nachweis eine Steatose sowie zur entsprechenden Graduierung. Basierend auf einer Studie von Caussy et. al in der die Nachweisgrenze im Vergleich zum MRT bei 119 Probanden evaluiert wurde ergab sich zum Nachweis einer Steatose von > 5% (MRI-PDFF ≥ 5%) ein Grenzwert ≥ 288 dB/m [19], welcher auch in die Leitlinie der AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) aufgenommen wurde [84]. Daher erfolgte die Analyse unserer Daten unter der Annahme einer signifikanten Steatose beim Vorliegen eines CAP-Wertes von ≥ 288 dB/m. Dies erklärt auch den relativ niedrigen Anteil von Patienten mit einer SLD in unserem Kollektiv.

Kongruente Ergebnisse sahen wir in der durchgeführten BIA- Messung. Hier war das Vorliegen einer SLD signifikant mit einem erhöhten BMI, einem erhöhten relativen und absoluten Fettanteil sowie mit einem erhöhten Fettmasse Index (kg/m^2) vergesellschaftet. Hinweise auf eine Reduktion des Phasenwinkels, wie bei Chuangya Che et.al beschrieben, ergaben sich bei unseren Patienten, auch wenn keine Fettleber vorlag, nicht. Dieser konnte zeigen, dass der Phasenwinkel in der BIA- Messung, sowie der CAP-Werte (wenn > 240 db/m) zwischen einem BMI von 24 bis 29,9 kg/m^2 mit dem Vorliegen einer NAFLD bei adipösen Patienten korrelieren [21]. Einschränkend ist zu erwähnen, dass für die Vorhersage ob eine NASH vorliegt, der BMI, der Bauchumfang (WC: waist circumference“) als auch die BIA eine etwa gleichhohe Vorhersagewahrscheinlichkeit aufweisen [94]. Somit ergab sich aus den durchgeführten Messungen kein klarer Mehrwert in unserem Kollektiv.

5.6 Einschränkungen der Studie

Bei der von uns durchgeführten Studie handelt es sich um eine prospektive Querschnittsanalyse. Daraus folgt, dass die erhobenen Daten lediglich eine Momentaufnahme zeigen und somit keine Aussagen über den Verlauf bzw. über die Entwicklung der gesehenen Parameter über die Zeit ermöglichen. Eine weitere Einschränkung ist das Fehlen eines Vergleichskollektivs, so dass zur Interpretation der Ergebnisse andere Veröffentlichungen herangezogen werden mussten. Eine Aussage, zum Beispiel bezüglich der Häufigkeit einer SLD, bei Patienten mit CED im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung in unserer Kohorte nicht getroffen werden kann. Ebenso nachteilig ist die sicherlich zu geringe Fallzahl im Verhältnis zur Häufigkeit der untersuchten Mutationen sowie eine deutliche Übergewichtung an MC

Patienten. Sinnvoll wäre die Überführung der erhobenen Daten in überregionale Register sowie die Akquise weiterer Patienten.

5.7 Fazit und Ausblick

Die SLD ist eine Komorbidität die im Rahmen chronisch entzündlicher Darmerkrankungen häufig auftritt. Der Anteil der Patienten mit einer SLD war in unserem Kollektiv im Vergleich zu aktuellen Vergleichskollektiven eher niedrig. Grund hierfür ist der von uns gewählte Grenzwert in der Elastographie. Die Rolle der klassischen Laborwerte zum Nachweis einer Steatose spielt aus unserer Sicht eine untergeordnete Rolle. Die GOT, das Cholesterins, sowie die Triglyceride, waren positiv mit dem Vorliegen einer Steatose vergesellschaftet. Die Durchführung einer Abdomen Sonographie oder, falls möglich einer Elastographie, erscheint beim Nachweis einer entsprechenden Erhöhung der Leber- und Fettstoffwechselparameter sinnvoll. Jedoch ist eine Interpretation, vor allem der in der Elastographie erhobenen Werte bei fehlenden absoluten Grenzwerten schwierig. Trotz der niedrigen Probandenzahl konnten wir in unserer Kohorte klassische Risikofaktoren wie eine Mutation im *PNPLA3* Gen als Risikofaktoren für das Vorliegen einer SLD auch bei CED-Patienten bestätigen. Weiter ergaben sich Hinweise darauf, dass auch Mutationen im *NOD2* (C3020iC) Gen zumindest zu einer Erhöhung der Alkalischen Phosphatase, im Sinne eine möglichen Leberschädigung führen könnten. Eine klare Relevanz für die klinische Praxis ergibt sich aktuell hieraus nicht.

Eine entsprechende genetische Testung und die nach der neuen Nomenklatur bessere Differenzierbarkeit, der zugrundeliegenden Genese der Steatose, sprich die genauere Unterscheidung von Patienten mit einer MASLD, MetALD und ALD die die große Mehrzahl der SLD Patienten ausmacht im Verhältnis zu Patienten mit einer spezifischen Ätiologie, die die CED nach unserer Auffassung wahrscheinlich darstellt, könnte in ähnlichen Kohorten in Zukunft bei der Identifizierung von Risikopatienten eine wichtige Rolle spielen.

6. Literaturverzeichnis:

1. Aghdassi E, Wendland BE, Steinhart AH, Wolman SL, Jeejeebhoy K, Allard JP (2003) Antioxidant vitamin supplementation in Crohn's disease decreases oxidative stress. A randomized controlled trial. Am J Gastroenterol 98:348–353

2. Ahmad T, Armuzzi A, Bunce M, et al. (2002) The molecular classification of the clinical manifestations of Crohn's disease. Gastroenterology 122:854–866

3. Ahmed A, Wong RJ, Harrison SA (2015) Nonalcoholic Fatty Liver Disease Review: Diagnosis, Treatment, and Outcomes. Clinical Gastroenterology and Hepatology 13:2062–2070

4. Alkhouri RH, Hashmi H, Baker RD, Gelfond D, Baker SS (2013) Vitamin and mineral status in patients with inflammatory bowel disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr 56:89–92

5. Allen AM, Hicks SB, Mara KC, Larson JJ, Therneau TM (2019) The risk of incident extrahepatic cancers is higher in non-alcoholic fatty liver disease than obesity – A longitudinal cohort study. J Hepatol 71:1229–1236

6. Main AN, Mills PR, Russell RI, et al. (1983) Vitamin A deficiency in Crohn's disease. Gut 24:1169–1175

7. BasuRay S, Wang Y, Smagris E, Cohen JC, Hobbs HH (2019) Accumulation of PNPLA3 on lipid droplets is the basis of associated hepatic steatosis. Proc Natl Acad Sci USA 116:9521–9526

8. Bauer S, Hezinger L, Rexhepi F, Ramanathan S, Kufer TA (2023) NOD-like Receptors Emerging Links to Obesity and Associated Morbidities. Int J Mol Sci 24: Int J Mol Sci.:24(10):8595.

9. Beheshti Maal A, Shahrbaf MA, Sadri B, Hossein-Khannazer N, Mansournia MA, Vosough M (2024) Prevalence of Hepatobiliary Manifestations in Inflammatory Bowel Disease: A GRADE Assessed Systematic Review and Meta-Analysis of more than 1.7 Million Patients. J Crohns Colitis 18:360–374

10. Bessissow T, Le NH, Rollet K, Afif W, Bitton A, Sebastiani G (2016) Incidence and Predictors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Serum Biomarkers in Patients with Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis 22:1937–1944

11. Bo Wang PT (2019) Phospholipid Remodeling in Physiology and Disease Bo. Annu Rev Physiol 81:165–188

12. Botella-Carretero JI, Balsa JA, Vázquez C, Peromingo R, Díaz-Enriquez M, Escobar-Morreale HF (2010) Retinol and alpha-tocopherol in morbid obesity and nonalcoholic fatty liver disease. Obes Surg 20:69–76

13. Bril F, Ortiz-Lopez C, Lomonaco R, et al. (2015) Clinical value of liver ultrasound for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease in overweight and obese patients. Liver International 35:2139–2146

14. Buch S, Stickel F, Trépo E, et al. (2015) letters A genome-wide association study confirms PNPLA3 and identifies TM6SF2 and MBOAT7 as risk loci for alcohol-related cirrhosis. Nature Publishing Group 47:1443–1448

15. Burisch J, Kiudelis G, Kupcinskas L, et al. (2019) Natural disease course of Crohn's disease during the first 5 years after diagnosis in a European population-based inception cohort: An Epi-IBD study. Gut 68:423–433

16. Caddeo A, Jamialahmadi O, Solinas G, Pujia A, Mancina RM, Pingitore P, Romeo S (2019) MBOAT7 is anchored to endomembranes by six transmembrane domains. J Struct Biol 206:349–360

17. Carding S, Verbeke K, Vipond DT, Corfe BM, Owen LJ (2015) Dysbiosis of the gut microbiota in disease. Microb Ecol Health Dis 26:1–9

18. Caruso R, Warner N, Inohara N, Núñez G (2014) NOD1 and NOD2: Signaling, host defense, and inflammatory disease. Immunity 41:898–908

19. Caussy C, Alquiraish MH, Nguyen P, et al. (2018) Optimal threshold of controlled attenuation parameter with MRI-PDFF as the gold standard for the detection of hepatic steatosis. Hepatology 67:1348–1359

20. Chao C-Y, Battat R, Al Khoury A, Restellini S, Sebastiani G, Bessissow T (2016) Co-existence of non-alcoholic fatty liver disease and inflammatory bowel disease: A review article. World J Gastroenterol 22:7727–34

21. Chen G, Lv Y, Ni W, Shi Q, Xiang X, Li S, Song C, Xiao M, Jin S (2020) Associations between Phase Angle Values Obtained by Bioelectrical Impedance Analysis and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in an Overweight Population. Can J Gastroenterol Hepatol 2020:8888405

22. Cleynen I, González JR, Figueroa C, et al. (2013) Genetic factors conferring an increased susceptibility to develop Crohn's disease also influence disease phenotype: Results from the IBDchip European project. Gut 62:1556–1565

23. Cleynen I, Boucher G, Jostins L, et al. (2016) Inherited determinants of Crohn's disease and ulcerative colitis phenotypes: A genetic association study. The Lancet 387:156–167

24. Ehrhardt N, Doche ME, Chen S, et al. (2017) Hepatic TM6SF2 overexpression affects cellular ApoB-trafficking, plasma lipid levels, hepatic steatosis and atherosclerosis. Hum Mol Genet 26:2719–2731

25. Ekstedt M, Hagström H, Nasr P, et al. (2015) Fibrosis stage is the strongest predictor for disease-specific mortality in NAFLD after up to 33 years of follow-up. Hepatology 61:1547–1554

26. Eslam M, Sanyal AJ, George J; International Consensus Panel. Z (2020) MAFLD: A Consensus-Driven Proposed Nomenclature for Metabolic Associated Fatty Liver Disease. Gastroenterology 158:1999-2014.e1

27. Fracanzani AL, Valenti L, Bugianesi E, et al. (2008) Risk of severe liver disease in nonalcoholic fatty liver disease with normal aminotransferase levels: A role for insulin resistance and diabetes. Hepatology 48:792–798

28. Freire P, Cardoso R, Figueiredo P, et al. (2014) NOD2 gene mutations in ulcerative colitis: Useless or misunderstood? Int J Colorectal Dis 29:653–661

29. Gisbert JP, Luna M, González-Lama Y, et al. (2007) Liver injury in inflammatory bowel disease: Long-term follow-up study of 786 patients. Inflamm Bowel Dis 13:1106–1114

30. Goethel A, Croitoru K, Philpott DJ (2018) The interplay between microbes and the immune response in inflammatory bowel disease. Journal of Physiology 596:3869–3882

31. Goffredo M, Caprio S, Feldstein AE, et al. (2015) Role of TM6SF2 rs58542926 in the Pathogenesis of Nonalcoholic Pediatric Fatty Liver Disease: A Multiethnic Study. Hepatology: 63(1):117-125.

32. Grimes CL, Ariyananda LDZ, Melnyk JE, O'Shea EK (2012) The innate immune protein Nod2 binds directly to MDP, a bacterial cell wall fragment. J Am Chem Soc 134:13535–13537

33. Halme L, Paavola-Sakki P, Turunen U, Lappalainen M, Farkkila M, Kontula K (2006) Family and twin studies in inflammatory bowel disease. World journal of gastroenterology: WJG 12:3668–3672

34. Harper JW, Zisman TL, Jarmakiewicz-czaja S, Sokal A, Filip R (2020) Interaction of obesity and inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol 22:1–16

35. He S, Mcphaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin N V, Cohen JC, Hobbs HH (2010) A Sequence Variation (I148M) in PNPLA3 Associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. J Biol Chem.:285(9): 6706-6715

36. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E, Clark JM (2011) Diagnostic accuracy and reliability of ultrasonography for the detection of fatty liver: A meta-analysis. Hepatology 54:1082–1090

37. Huang Y, He S, Li JZ, Seo YK, Osborne TF, Cohen JC, Hobbs HH (2010) A feed-forward loop amplifies nutritional regulation of PNPLA3. Proc Natl Acad Sci USA 107:7892–7897

38. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, et al. (2001) Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. Nature 411:599–603

39. Jarczak J, Kościuczuk EM, Lisowski P, et al. (2013) Defensins: Natural component of human innate immunity. Hum Immunol 74:1069–1079

40. Jarmakiewicz-czaja S, Sokal A, Filip R (2020) What was first, obesity or inflammatory bowel disease? What does the gut microbiota have to do with it? Nutrients 12:1–16

41. Joseph F. Cavallari, Pokrajac NT, Zlitni S, Foley KP, Henriksbo BD, Schertzer JD. (2020) NOD2 in hepatocytes engages a liver-gut axis to protect against steatosis, fibrosis, and gut dysbiosis during fatty liver disease in mice. Am J Physiol Endocrinol Metab.:319(2): E305-E314

42. Kaczmarek-Ryś M, Hryhorowicz ST, Lis E, et al. (2021) Clinical Medicine Crohn's Disease Susceptibility and Onset Are Strongly Related to Three NOD2 Gene Haplotypes. J Clin Med 10: 3777

43. Kayali S, Fantasia S, Gaiani F, Cavallaro LG, de'Angelis GL, Laghi L (2024) NOD2 and Crohn's Disease Clinical Practice: From Epidemiology to Diagnosis and Therapy, Rewired. Inflamm Bowel Dis: Published online April 6, 2024

44. Kleiner DE, Brunt EM, Wilson LA, et al. (2019) Association of Histologic Disease Activity With Progression of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. JAMA Netw Open 2: e1912565

45. Kobayashi T, Kessoku T, Ozaki A, et al. (2021) Vitamin B6 efficacy in the treatment of nonalcoholic fatty liver disease: an opennlabel, singleearm, singleecenter trial. J Clin Biochem Nutr 68:181–186

46. Konyn P, Ahmed A, Kim D (2023) Causes and risk profiles of mortality among individuals with nonalcoholic fatty liver disease. Clin Mol Hepatol 29: S43–S57

47. Kozlitina J, Smagris E, Stender S, et al. (2014) Exome-wide association study identifies a TM6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. Nat Genet 46:352–356

48. Krawczyk M, Grünhage F, Zimmer V, Lammert F (2011) Variant adiponutrin (PNPLA3) represents a common fibrosis risk gene: Non-invasive elastography-based study in chronic liver disease. J Hepatol 55:299–306

49. Krawczyk M, Liebe R, Lammert F (2020) Toward Genetic Prediction of Nonalcoholic Fatty Liver Disease Trajectories: PNPLA3 and Beyond. Gastroenterology:158(7):1865-1880.:

50. Lavine JE (2000) Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: A pilot study. Journal of Pediatrics 136:734–738

51. Lavine JE, Schwimmer JB, Van Natta ML, et al. (2011) Effect of vitamin E or metformin for treatment of nonalcoholic fatty liver disease in children and adolescents: the TONIC randomized controlled trial. JAMA 305:1659–1668

52. Lefere S, Tacke F (2019) Macrophages in obesity and non-alcoholic fatty liver disease: Crosstalk with metabolism. JHEP Rep:1:30-43.

53. Li XY, Liu Z, Li L, Wang HJ, Wang H (2022) TM6SF2 rs58542926 is related to hepatic steatosis, fibrosis and serum lipids both in adults and children: A meta-analysis. Front Endocrinol (Lausanne):13:1026901

54. Lin A, Roth H, Anyane-Yeboa A, Rubin DT, Paul S (2020) Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. Inflamm Bowel Dis XX:1–9

55. Liu JZ, Sommeren S Van, Huang H, Ng SC, Alberts R (2016) Europe PMC Funders Group Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations. 47:979–986

56. Liu Y, Chen H, Wang J, Zhou W, Sun R, Xia M (2015) Association of serum retinoic acid with hepatic steatosis and liver injury in nonalcoholic fatty liver disease. American Journal of Clinical Nutrition 102:130–137

57. Long-Smith C, O'riordan KJ, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF (2019) Microbiota-Gut-Brain Axis: New Therapeutic Opportunities. Annu Rev Pharmacol Toxicol

58. Lynch S V., Pedersen O (2016) The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. New England Journal of Medicine 375:2369–2379

59. Magrì S, Paduano D, Chicco F, et al. (2019) Nonalcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease: Beyond the natural history. World J Gastroenterol 25:5676–5686

60. Mancina RM, Spagnuolo R, Milano M, et al. (2016) PNPLA3 148M Carriers with Inflammatory Bowel Diseases Have Higher Susceptibility to Hepatic Steatosis and Higher Liver Enzymes. Inflamm Bowel Dis 22:134–140

61. Mancina RM, Dongiovanni P, Petta S, et al. (2016) The MBOAT7-TMC4 Variant rs641738 Increases Risk of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Individuals of European Descent. Gastroenterology:150(5):1219-1230

62. Marchesini G, Day CP, Dufour JF, Canbay A, Nobili V, Ratziu V, Tilg H, Roden M, Gastaldelli A, Yki-Jarvinen H, Schick F, Vettor R, Fruhbeck G, Mathus-Vliegen L (2016) EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. J Hepatol 64:1388–1402

63. Maresca R, Mignini I, Varca S, et al. (2024) Inflammatory Bowel Diseases and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: Piecing a Complex Puzzle Together. Int J Mol Sci: 25(6):3278

64. Martínez-Domínguez SJ, García-Mateo S, Gargallo-Puyuelo CJ, et al. (2023) Inflammatory Bowel Disease Is an Independent Risk Factor for Metabolic Dysfunction–Associated Steatotic Liver Disease in Lean Individuals. Inflamm Bowel Dis.:30(8):1274-1283

65. Martínez-Domínguez SJ, García-Mateo S, Gargallo-Puyuelo CJ, et al. (2024) Crohn´s disease is an independent risk factor for liver fibrosis in patients with inflammatory bowel disease and non-alcoholic fatty liver disease. Eur J Intern Med 120:99–106

66. Masarone M, Federico A, Abenavoli L, Loguercio C, Persico M (2014) Non alcoholic fatty liver: epidemiology and natural history. Rev Recent Clin Trials 9:126–33

67. McGowan CE, Jones P, Long MD, Barritt IV AS (2012) Changing shape of disease: Nonalcoholic fatty liver disease in Crohn's disease-A case series and review of the literature. Inflamm Bowel Dis 18:49–54

68. Meroni M, Longo M, Fracanzani AL, Dongiovanni P (2020) MBOAT7 down-regulation by genetic and environmental factors predisposes to MAFLD. EBioMedicine: 57:102866

69. Mirbagheri SA, Nezami BG, Assa S, Hajimahmoodi M (2008) Rectal administration of d-alpha tocopherol for active ulcerative colitis: a preliminary report. World J Gastroenterol 14:5990–5995

70. Mukherjee T, Hovingh ES, Foerster EG, Abdel-Nour M, Philpott DJ, Girardin SE (2019) NOD1 and NOD2 in inflammation, immunity and disease. Arch Biochem Biophys 670:69–81

71. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, et al. (2001) A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. Nature 411:603–606

72. Øyri SF, Muzes G, Sipos F (2015) Dysbiotic gut microbiome: A key element of Crohn's disease. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 43:36–49

73. Ozbayer C, Kurt H, Kebapci MN, Gunes H V., Colak E, Degirmenci I (2017) Effects of genetic variations in the genes encoding NOD1 and NOD2 on type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. J Clin Pharm Ther 42:98–102

74. Ozkan H, Ozercan AM (2022) Vibration-controlled Transient Elastography in NAFLD: Review Study. Euroasian J Hepatogastroenterol 12: S41–S45

75. Gionchetti P, Dignass A, Danese S, et al. (2017) 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disase 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations. J Crohns Colitis:11(2):135-149

76. Parisi I, O'Beirne J, Rossi RE, Tsochatzis E, Manousou P, Theocharidou E, Hamilton M, Murray C, Epstein O, Burroughs AK (2016) Elevated liver enzymes in inflammatory bowel disease: The role and safety of infliximab. Eur J Gastroenterol Hepatol 28:786–791

77. Philpott DJ, Sorbara MT, Robertson SJ, Croitoru K, Girardin SE (2014) NOD proteins: Regulators of inflammation in health and disease. Nat Rev Immunol 14:9–23

78. Pirola CJ, Sookoian S (2015) The Dual and Opposite Role of the TM6SF2-rs58542926 Variant in Protecting Against Cardiovascular Disease and Conferring Risk for Nonalcoholic Fatty Liver: A Meta-analysis. Hepatology:62(6):1742-1756

79. Pittayanon R, Lau JT, Leontiadis GI, et al. (2020) Differences in Gut Microbiota in Patients With vs Without Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review. Gastroenterology:158(4):930-946.e1

80. Powell EE, Wong VWS, Rinella M (2021) Non-alcoholic fatty liver disease. The Lancet 397:2212–2224

81. Rempel J, Grover K, El-Matary W (2021) Micronutrient deficiencies and anemia in children with inflammatory bowel disease. Nutrients:13(1):236.82. Restellini S, Chazouillères O, Frossard JL (2017) Hepatic manifestations of inflammatory bowel diseases. Liver Int.:37(4):475-489

83. Rinella ME, Lazarus JV, Ratziu V, et al. (2023) A multisociety Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. J Hepatol 79:1542–1556

84. Rinella ME, Neuschwander-Tetri BA, Siddiqui MS, Abdelmalek MF, Caldwell S, Barb D, Kleiner DE, Loomba R (2023) AASLD Practice Guidance on the clinical assessment and management of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 77:1797–1835

85. Rodriguez-Duque JC, Calleja JL, Iruzubieta P, et al. (2023) Increased risk of MAFLD and Liver Fibrosis in Inflammatory Bowel Disease Independent of Classic Metabolic Risk Factors. Clinical Gastroenterology and Hepatology 21:406-414.e7

86. Roeb E, Canbay A, Bantel H, et al. (2022) Aktualisierte S2k-Leitlinie nicht-alkoholische Fettlebererkrankung der Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) - April 2022 - AWMF-Registernummer: 021-025. Z Gastroenterol 60(9):1346–1421

87. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH (2008) Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. Nat Genet 40:1461–5

88. Roth R, Vavricka S, Scharl M, et al. (2021) The impact of colectomy on the course of extraintestinal manifestations in Swiss inflammatory bowel disease cohort study patients. United European Gastroenterol J 9:773–780

89. Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, et al. (2008) Performance of Transient Elastography for the Staging of Liver Fibrosis: Gastroenterology:134(4):960-974

90. Saeed A, Dullaart RPF, Schreuder TCMA, Blokzijl H, Faber KN (2018) Disturbed vitamin A metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). Nutrients.:10(1):29

91. Saibeni S, Cattaneo M, Vecchi M, et al. (2003) Low vitamin B6 plasma levels, a risk factor for thrombosis, in inflammatory bowel disease: Role of inflammation and correlation with acute phase reactants. American Journal of Gastroenterology 98:112–117

92. Saroli Palumbo C, Restellini S, Chao CY, et al. (2019) Screening for nonalcoholic fatty liver disease in inflammatory bowel diseases: A cohort study using transient elastography. Inflamm Bowel Dis 25:124–133

93. Sasso M, Beaugrand M, de Ledinghen V, et al. (2010) Controlled attenuation parameter (CAP): A novel VCTETM guided ultrasonic attenuation measurement for the evaluation of hepatic steatosis: Preliminary study and validation in a cohort of patients with chronic liver disease from various causes. Ultrasound Med Biol 36:1825–1835

94. Schwenger KJP, Kiu A, AlAli M, Alhanaee A, Fischer SE, Allard JP (2022) Comparison of bioelectrical impedance analysis, mass index, and waist circumference in assessing risk for non-alcoholic steatohepatitis. Nutrition 93:111491

95. Sender R, Fuchs S, Milo R (2016) Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. PLoS Biol 14:1–14

96. Shiny A, Regin B, Balachandar V, et al. (2013) Convergence of innate immunity and insulin resistance as evidenced by increased nucleotide oligomerization domain (NOD) expression and signaling in monocytes from patients with type 2 diabetes. Cytokine 64:564–570

97. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R (2015) Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver vs Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy Studies. Clinical Gastroenterology and Hepatology 13:643-654

98. Sonsuz A (2000) Relationship between aminotransferase levels and histopathological findings in patients with nonalcoholic steatohepatitis. Am J Gastroenterol 95:1370–1371

99. Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ (2009) A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. J Lipid Res 50:2111–2116

100. Sookoian S, Pirola CJ (2011) Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology 53:1883–1894

101. Sourianarayanane A, Garg G, Smith TH, Butt MI, McCullough AJ, Shen B (2013) Risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis 7:e279–e285

102. Taylor RS, Taylor RJ, Bayliss S, et al. (2020) Association Between Fibrosis Stage and Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology 158:1611-1625.e12

103. Teo K, Abeysekera KWM, Adams L, et al (2021) rs641738C>T near MBOAT7 is positively associated with liver fat, ALT, and fibrosis in NAFLD: a meta-analysis. J Hepatol.:74(1):20-30

104. Thampanitchawong P, Piratvisuth T (1995) Liver biopsy: complications and risk factors. World J Gastroenterol.:5(4):301-304

105. Thomas (1873) Bibliographical Notices The Science and Art of Surgery. By John Eric Erichsen. A new Edition, enlarged and carefully revised by the Author. 2 vols. Philadelphia: Henry C. Lea. 1873. Boston Med Surg J 88:376–377

106. Trépo E, Nahon P, Bontempi G, et al. (2013) Association Between the PNPLA3 (rs738409 C>G) Variant and Hepatocellular Carcinoma: Evidence From a Meta-Analysis of Individual Participant Data. Hepatology:59(6):2170-2177

107. Trifan A, Stafie R, Rotaru A, et al. (2022) Screening for Liver Steatosis and Fibrosis in Patients with Inflammatory Bowel Disease Using Vibration Controlled Transient Elastography with Controlled Attenuation Parameter. Clin Med.:11(19):5959

108. Tripathi A, Debelius J, Brenner DA, Karin M, Loomba R, Schnabl B, Knight R (2018) The gut-liver axis and the intersection with the microbiome. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 15:397–411

109. Vagianos K, Bector S, McConnell J, Bernstein CN (2007) Nutrition assessment of patients with inflammatory bowel disease. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition 31:311–319

110. Veltkamp C, Lan S, Korompoki E, Weiss KH, Schmidt H, Seitz HK (2022) Hepatic Steatosis and Fibrosis in Chronic Inflammatory Bowel Disease. J Clin Med.:11(9)

111. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM (2011) Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. Aliment Pharmacol Ther 34:274–285

112. Wang SZ, Yu YJ, Adeli K (2020) Role of gut microbiota in neuroendocrine regulation of carbohydrate and lipid metabolism via the microbiota-gut-brain-liver axis. Microorganisms. 2020;8(4):527

113. Wu Q, Luo Y, Lu H, et al. (2024) The Potential Role of Vitamin E and the Mechanism in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease. Foods.:13(6):898

114. Xia Y, Huang CX, Li GY, et al. (2019) Meta-analysis of the association between MBOAT7 rs641738, TM6SF2 rs58542926 and nonalcoholic fatty liver disease susceptibility. Clin Res Hepatol Gastroenterol 43:533–541

115. Yamamoto-Furusho JK, Sánchez-Osorio M, Uribe M (2010) Abnormal Function Liver Tests in patients with ulcerative colitis. Ann Hepatol.:9(4):397-401.

116. Younossi Z, Aggarwal P, Shrestha I, Fernandes J, Johansen P, Augusto M, Nair S (2022) The burden of non-alcoholic steatohepatitis: A systematic review of health-related quality of life and patient-reported outcomes. JHEP Rep.:4(9):100525.

117. Zamani M, Alizadeh-Tabari S, Singh S, Loomba R (2022) Meta-analysis: prevalence of, and risk factors for, non-alcoholic fatty liver disease in patients with inflammatory bowel disease. Aliment Pharmacol Ther 55:894–907

118. Zhou F, Zhou J, Wang W, et al. (2019) Unexpected Rapid Increase in the Burden of NAFLD in China From 2008 to 2018: A Systematic Review and Meta-Analysis. Hepatology 70:1119–1133

119. Zobair M. Younossi, Koenig, Aaron B., Abdelatif D, Fazel Yousef HL, Wymer and MW (2016) Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease—Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes. Hepatology 64:73–84

7. Publikationen:

Kongressbeitrag:

Michael Schuster, Marcin Krawczyk, Frank Lammert, Vincent Zimmer. Nicht-alkoholische Fettleberkrankung bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen: Prospektive Untersuchung der Inzidenz und genetischer Risikofaktoren. Vortrag DGVS 2017

8. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. F. Lammert und Herrn Prof. Dr. V. Zimmer für die Möglichkeit der Durchführung meiner Arbeit und die Überlassung des Themas, weiter Herrn Prof. Dr. M. Krawczyk für die weiterführende Betreuung und Unterstützung sowie für die kritische Durchsicht dieser Dissertation.

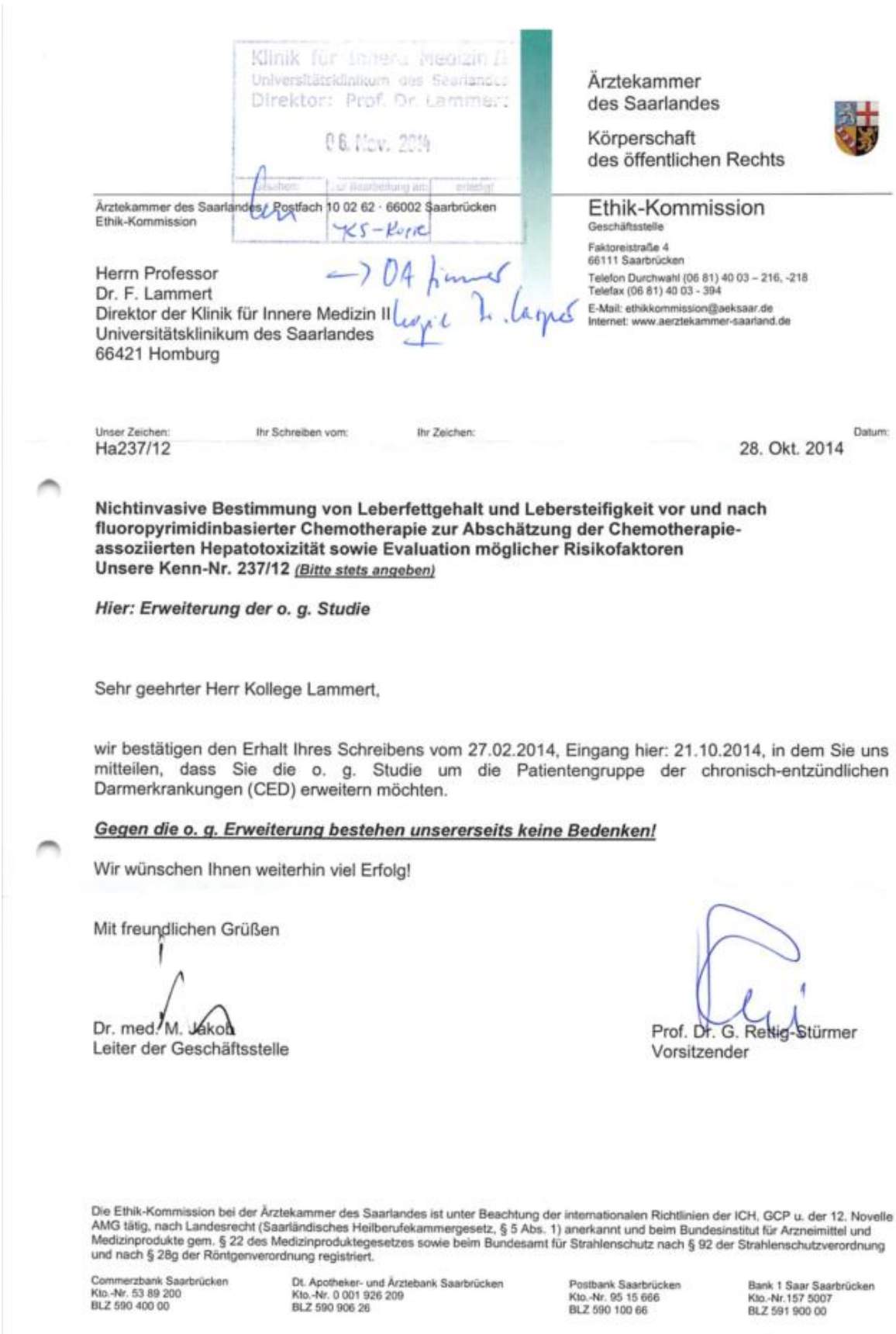
Mein weiterer Dank gilt allen Teilnehmenden Patienten, den Mitarbeitern der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums des Saarlandes, die mich beim Sammeln der Patienten-Proben unterstützt haben, sowie Frau Dr. Susanne Weber und Ihren Mitarbeitern in unsrem Gastroenterologischen Labor für die Unterstützung bei der genetischen Analytik.

9. Lebenslauf:

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 22. April 2025
Dekan: Prof. Dr. M. Hanning
Berichterstatter: Prof. Dr. M. Krawczyk
Prof. Dr. M. Glanemann

10. Anhang:



Klinik für Innere Medizin II
Universitätsklinikum des Saarlandes
Direktor: Prof. Dr. Lammert
06. Nov. 2014
gesehen | zur Bearbeitung an: | erledigt
YKS-Kopie

Ärztekammer
des Saarlandes
Körperschaft
des öffentlichen Rechts

Ethik-Kommission
Geschäftsstelle
Faktoreistraße 4
66111 Saarbrücken
Telefon Durchwahl (06 81) 40 03 – 216, -218
Telefax (06 81) 40 03 - 394
E-Mail: ethikkommission@aeksaar.de
Internet: www.aerztekammer-saarland.de

Ärztekammer des Saarlandes · Postfach 10 02 62 · 66002 Saarbrücken
Ethik-Kommission

Herrn Professor
Dr. F. Lammert
Direktor der Klinik für Innere Medizin II
Universitätsklinikum des Saarlandes
66421 Homburg

→ 04 Zimmer

Unser Zeichen:	Ihr Schreiben vom:	Ihr Zeichen:	Datum:
Ha237/12			28. Okt. 2014

Nichtinvasive Bestimmung von Leberfettgehalt und Lebersteifigkeit vor und nach fluoropyrimidinbasierter Chemotherapie zur Abschätzung der Chemotherapie-assoziierten Hepatotoxizität sowie Evaluation möglicher Risikofaktoren
Unsere Kenn-Nr. 237/12 ***(Bitte stets angeben)***

Hier: Erweiterung der o. g. Studie

Sehr geehrter Herr Kollege Lammert,

wir bestätigen den Erhalt Ihres Schreibens vom 27.02.2014, Eingang hier: 21.10.2014, in dem Sie uns mitteilen, dass Sie die o. g. Studie um die Patientengruppe der chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) erweitern möchten.

Gegen die o. g. Erweiterung bestehen unsererseits keine Bedenken!

Wir wünschen Ihnen weiterhin viel Erfolg!

Mit freundlichen Grüßen

Dr. med. M. Jakob
Leiter der Geschäftsstelle

Prof. Dr. G. Rettig-Stürmer
Vorsitzender

Die Ethik-Kommission bei der Ärztekammer des Saarlandes ist unter Beachtung der internationalen Richtlinien der ICH, GCP u. der 12. Novelle AMG tätig, nach Landesrecht (Saarländisches Heilberufekammergesetz, § 5 Abs. 1) anerkannt und beim Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte gem. § 22 des Medizinproduktegesetzes sowie beim Bundesamt für Strahlenschutz nach § 92 der Strahlenschutzverordnung und nach § 28g der Röntgenverordnung registriert.

Commerzbank Saarbrücken	Dt. Apotheker- und Ärztebank Saarbrücken	Postbank Saarbrücken	Bank 1 Saar Saarbrücken
Kto.-Nr. 53 89 200	Kto.-Nr. 0 001 926 209	Kto.-Nr. 95 15 666	Kto.-Nr.157 5007
BLZ 590 400 00	BLZ 590 906 26	BLZ 590 100 66	BLZ 591 900 00

Abbildung 7. Ethikantrag.

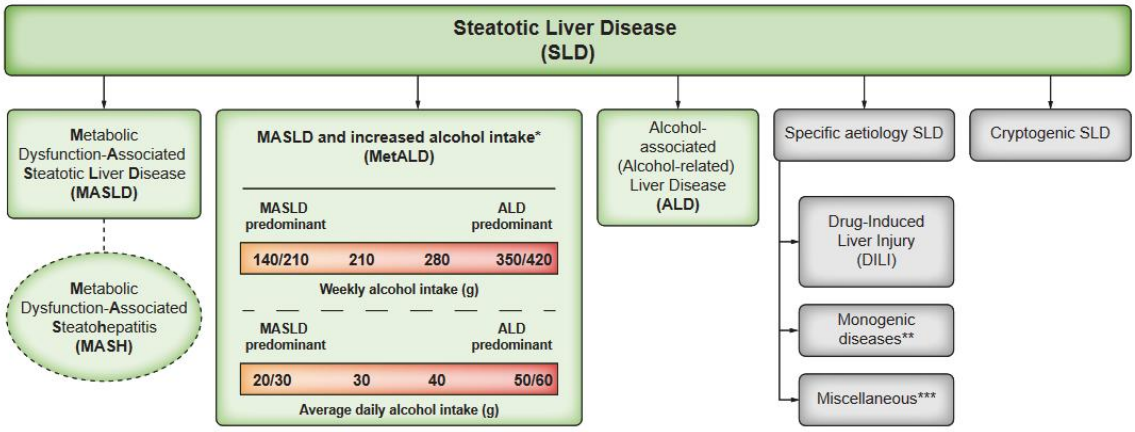


Abbildung 8. Nomenklatur der steatotischen Lebererkrankungen. [83]

Reaktionsansatz	
DNA 5-50 ng / µl	1 [µL]
TaqMann© Universal MasterMix	2,5
H20	0,40
Sonde VIC 10 [µM]	0,1
Sonde FAM 10 "	0,1
Primer F 10 "	0,45
Primer R 10 "	0,45
Gesamt	5

Tabelle 10. Reaktionsansatz der PCR-Messungen.

Primer / Probe / SNP ID	**Basensequenz**
***PNPLA3* (p. I148M) (rs738409)**	
Forward primer	5’ – AACTTCTCTCTCCTTTGCTTTCACA – 3’
Reverse primer	5’ – TCTACAGTGGCCTTATCCCTCC – 3’
VIC	5’ – TTCCTGCTTCATGCC – 3’
FAM	5’ – CCTGCTTCATCCC – 3’
***TM6SF2* (p.E167K) (rs58542926)**	
Forward primer	5’ – TTCCTTACAGGAAACATTCTTGG-3’
Reverse primer	5’ – GCAGGTAGGGGATGGTGAG-3’
VIC	5’ – GTGAGGAAGAAGGCAGGCCTGATCTC-3’
FAM	5’ – TGGAGCTGTATTTGCCTTCCATGGTG-3’
***MBOAT7* (g.54173068 >T) (rs641738)**	
Forward primer	5' - TGTAAAACGACGGCCAGT– 3’
Reverse primer	5' - CAGGAAACAGCTATGACC– 3’
VIC	5' - TCTGGCCTCCCGGGGGGCCAGCCAC – 3’
FAM	5' - CCCTAGAGGAGCCCCAGGCTTCTGA– 3’
***NOD2* (c.3020insC) (rs2066847)**	
Forward primer	5’ – CCAGGTTGTCCAATAACTGCATC – 3’
Reverse primer	5’ – CCTTACCAGACTTCCAGGATGGT– 3’
VIC	5’ – TGCAGGCCCCTTG – 3’
FAM	5’ – CTGCAGGCCCTTG – 3’
***NOD2* (p.R702W) (rs2066844)**	
Forward primer	5’ – CTGTTGCCCCAGAAT – 3’
Reverse primer	5’ – GCTGCGGGCCAGACA – 3’
VIC	5’ – CCTGCTCTGGCGCC – 3’
FAM	5’ – CTGCTCCGGCGCC – 3’
***NOD2* (p.G908R) (rs2066845)**	
Forward primer	5’ – TGATCACCCAAGGCTTCAGC – 3’
Forward primer	5’ – GAACACATATCAGGTACTCACTGACAC – 3’
VIC	5’ – ACTCTGTTGCGCCAGA – 3’
FAM	5’ – CTGTTGCCCCAGAAT – 3’

Tabelle 11. Eingesetzte Sonden.

	Alle n = 87	**keine SLD n = 64 (73,6%)**	**SLD N = 23 (26,4%)**	**P**
Alter (a)	42,6 ± 13,7	41,4 ± 14,3	46 ± 11,5	0,106
Geschlecht, männlich*	50 (57,5)	28 (66,7)	22 (48,9)	
Größe (m)	1,7 ± 0,1	1,70 ± 0,09	1,71 ± 0,1	0,725
Gewicht (kg)	78,1 ± 17,4	73,2 ± 16,3	91,7 ± 12,9	**< 0,000**
BMI (kg/m^2)	26,8 ± 6,1	25,15 ± 5,5	31,5 ± 5,2	**< 0,000**
Erkrankungsdauer (a)	15,1 ± 11,5	14,4 ± 11,3	17,2 ± 12	0,236
Anzahl der Therapien	1,28 ± 0,60	1,31 ± 0,61	1,17 ± 0,58	0,461
Diagnosen				
M. Crohn	70 (80,5%)	53 (82,8**%**)	17 (73,9%)	
C. Ulcerosa	17 (19.5%)	11 (17.2**%**)	6 (26,1%)	

Tabelle 12. Basischarakteristika der Patienten mit und ohne die Diagnose einer Fettleber (alle).

Kategoriale Merkmale werden als Fallzahl (%) und quantitative Merkmale als Mittelwert (± Standardabweichung) angegeben; als Signifikanzniveau wird ein Wert < 0,005 angenommen, entsprechenden Werte sind hervorgehoben. Abkürzungen: BMI: Body-Mass Index. Mann-Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

	CAP	E
***PNPLA3* (P)**	0,277	0,941[i]
WT [CC] (52)	242,6 ± 61,6	5,2 ± 1,9
mutiert [CG + GG]	254,3 ± 61,1	5,12 ± 1,58
Alle (87)	248,5 ± 61,5	5,16 ± 1,75
***TM6SF2* (P)**	0,342	0,297[i]
WT [CC] (74)	251 ± 61,8	5,6 ± 1,8
mutiert [CT + TT]	233,5 ± 59,8	4,63 ± 1,3
***MBOAT7* (P)**	0,850	0,653[i]
[CC] (28)	246,7 ± 53,5	5,24 ± 2,24
mutiert [TT] +[CT]	249,37 ± 65,3	5,13 ± 1,48
***NOD2* (c.3020iC) (P)**	0,592	0,943[i]
WT (74)	247 ± 64,4	5,11 ± 1,63
mutiert (IM / MM)	257 ±41,7	5,45 ± 2,35
***NOD2* (p.R702W) (P)**	0,602	0,835
WT (75)	247,1 ± 59,6	5,18 ± 1,67
mutiert (IM / MM)	257 ± 74,3	5,07 ± 2,25
***NOD2* (p.G908R) (P)**	0,599	0,269
WT (81)	249,5 ± 62,8	5,2 ± 1,79
mutiert (IM / MM)	235,7 ± 40,7	4,4 ± 9,78

Tabelle 13. MW plus SD der CAP und E Werte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation.

Weiter dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. T-Test bei Normalverteilung der Parameter (CAP) und Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter (E[i]).

	Alle (n = 87)	**keine SLD (n = 64)**	**SLD (n = 23)**	**P**
Größe (m)	1,70 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	0,725
Gewicht (kg)	78,04 ± 17,35	73,2 ± 16,3	91,7 ± 12,9	**0,000**
BMI (kg/ m^2) (i)	26,81 ± 6,09	25,1 ± 5,5	31,5 ± 5,2	**0,000**
Relativer Fettanteil (%kg)	31,26 ± 11,13	28,7 ± 10,8	38,2 ± 8,9	**0,000**
Abs. Fettanteil (kg)	25,32 ± 12,26	21,7 ± 10,7	35,3 ± 10,6	**0,000**
Abs. Fettfreie Masse (kg)	52,73 ± 10,83	51,3 ± 10,7	56,6 ± 10,4	0,072
Muskelmasse (kg)	25,17 ± 6,20	24,3 ± 6,2	27,5 ± 5,8	0,059
Extracellular water (L)	16,64 ± 3,10	24,3 ± 2,9	18,6 ± 2,9	**0,009**
Intraacellular water (L)	22,30 ± 5,20	21,8±5	23,8 ± 4,7	0,152
Hydration value (%)(i)	76,84 ± 9,20	75 ± 10	18,1 ± 5,8	0,182
Energieverbrauch ges. (kcal)	2595,7 ± 537,9	2538,8 ± 574,7	2747,7 ± 395,6	0,137
Eenergieverbrauch Ruhe (kcal) (i)	1611,7 ± 275,9	1553,8 ±280,8	1769,7 ± 190,7	**0,001**
Fettmasseindex (kg/m2) (i)	8,9 ± 4,8	7,64 ± 4,3	12,4 ± 4,6	**0,000**
Fettfreiemasse	18 ± 2.47	17,5 ± 2,4	19,3 ± 2,2	**0,009**
Phasenwinkel	5,34 ± 0,7	5,36 ± 0,75	5,3 ± 0,58	0,575

Tabelle 14. Bioimpedanzmessung der Probanden ohne und mit einer Steatose (alle).

Quantitative Ergebnisse werden als Mittelwert (± Standardabweichung) angegeben; als Signifikanzniveau wird ein Wert < 0,005 angenommen, entsprechenden Werte sind hervorgehoben. Mann-Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung und T-Test bei Normverteilung im Shapiro Wilk Test der Werte mit Normalverteilung (i).

	Norm	Alle (n = 87)	keine SLD (n = 64)	SLD (n = 23)	P
Leberwerte					
ALAT (GPT)	10-50 U/L	28,3 ± 17,3	24,52 ± 14,9	38,78 ± 19,3	**< 0,00**
ASAT (GOT)	10-50 U/L	25,1 ± 8,3	23,61 ± 6,6	29,35 ± 10,8	**0,016**
AP	40-129 U/L	74,4 ± 25,4	72,3 ± 24,1	80,4 ± 28,3	0,227
GGT	< 60 U/L	30,5 ± 24,7	26,22 ± 19,5	42,3 ± 33,1	**< 0,000**
Billi	< 1,2 mg/dl	0,62 ± 0,36	0,61 ± 0,3	0,65 ± 0,43	0,981
INR	0,85-1,15	0,96 ± 0,28	0,95 ± 0,18	0,98 ± 0,47	**0,027**
Hormone					
TSH	0,27-4,20 µIU/ml	1,96 ± 1,24 (86)	2,1 ± 1,3 (62)	1,57 ± 0,84	0,172
freies T3	2,0 – 4,4 pg/ml	3,61 ± 0,48	3,6 ± 0,49	3,7 ± 0,46	0,181
freies T4	0,9 – 1,70 ng/dl	1,31 ± 0,19	1,31 ± 0,2	1,3 ± 0,17	0,787
Entzündungswerte					
Leukozyten		7,16 ± 2,6	7,19 ± 2,8	7,1 ± 2,3	0,795
CRP	<5mg/l	5,3 ± 6,5	5,3 ± 7	5,3 ± 4,9	0,400
Calprotectin	<50µg/g	220 ± 408	236 ± 396	175,5 ± 446,5	0,088
Ferritin	13-150 ng/ml	98,5 ± 100,5	90,1 ± 97,7	121,7 ± 106,7	0,082
Coeruleoplasmin	20-60 mg/dl	26,4 ± 5,7	26,6 ± 5,7	26 ± 6,5	0,658
α-1-Antitrypsin	90-200 mg/dl	146,7 ± 30,8	149,9 ± 30,5	137,7 ± 30,5	**0,044**
Vitamine Spurenelemente					
Vitamin A	30-70 µg/dl	51,3 ± 13.9	49,2 ± 12,7	57,4 ± 15,5	**0,015**
Vitamin B1	28-85 µg/l	62,2 ± 13,6	61,9 ± 14,1	63,8 ± 12,3	0,247
Vitamin B6	4,8-36,9 ng/ml	14,4 ± 16,2	16,2 ± 18	9,2 ± 6,0	**0,032**
Vitamin D	30-100 ng/ml	23,4 ± 12	23,8 ±12,5	22,1 ± 10,5	0,703
Vitamin B12	191-663pg/ml	372,3 ± 163,1	366,1 ±166	390,2 ± 156,8	0,520
Folsäure	3,9-26,8 ng/ml	8,7 ± 3,8	8.8 ± 3,8	8,6 ± 3,7	0,900
Vitamin E	500-2000 µg/dl	1324 ± 372	1241 ± 354	1567 ± 320	**< 0,000**
beta-Carotin	40-322 µg/l	264,1 ± 189,7	281.6 ± 206.5	211,3 ± 115,2	0,265
Kupfer	65-165 µg/dl	91,2 ± 24	91,6 ±23,2	89,8 ±26,7	0,554
freies Kupfer	<40 µg/dl	17 ± 11,8	15,9 ± 8,2	20,3 ± 18,8	0,668
Selen	50-120 µg/l	79,9 ± 16,9	79,2 ± 14,7	81,8 ±22,2	0,946
Zink	55-150 µg/dl	74,8 ± 10,8	74,8 ± 11,5	74,7 ± 9,1	0,802

Fettstoffwechsel					
Cholesterin	< 200mg/dl	170,59 ± 42,7	164,8 ± 40	186,7 ± 46,7	**0,041**
Triglyceride	<150mg/dl	126,38 ± 80,9	103,4 ± 51,1	190,2 ± 111	**< 0,000**
LDL-Cholesterin	<130 mg/dl	95,10 ± 37,95 (86)	90,4 ± 35 (63)	106.5 ± 44	0,172
HDL-Cholesterin	35-55 mg/dl	56,82 ±17,66	58,1 ± 17,4	53,13 ± 18,1	0,195

Tabelle 15. Ergebnisse der klinisch-chemischen Analytik der Probanden ohne und mit SLD (alle).

Quantitative Ergebnisse werden als Mittelwert (± Standardabweichung) angegeben; als Signifikanzniveau wird ein Wert < 0,005 angenommen, entsprechenden Werte sind hervorgehoben. Fehlende Werte sind in Klammern angegeben. Mann-Whitney U-Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

	Alle (n = 87)	**keine SLD (n = 64)**	**SLD (n = 23)**	**P**
***PNPLA3* p.I148M**				0,173
WT [CC]	52 (59,8 %)	41 (78,8%)	11 (21,2%)	-
mutiert [CG + GG]	35 (40,2 %)	23 (65,7%)	13 (34,3%)	-
TM6SF2				0,327
WT [CC]	74 (85,1 %)	53 (71,6 %)	21 (28,4 %)	-
mutiert [CT + TT]	13 (13,8 %)	11 (84,6%)	2 (15,4%)	-
MBOAT7				0,211
WT [CC]	28 (32,2 %)	23 (82,1%)	5 (17,9%)	
mutiert [CT + TT]	59 (67,8%)	41 (69,5%)	18 (30,5%)	
NOD2				
***NOD2* c.3020iC**				0,327
WT	74 (85,1%)	53 (71,6%)	21(28,4%)	-
mutiert [IM + MM]	13 (14,9%)	11 (84,6%)	2 (15,4%)	-
***NOD2* p.R702W**				0,560
WT	75 (86,2%)	56 (74,7%)	19 (25,3%)	-
mutiert [IM + MM]	10 (13,8%)	8 (66,7%)	4 (33,3%)	-
***NOD2* p.G90R**				0,128
WT	81 (93,1%)	58 (71,6%)	23 (28,4 %)	-
mutiert [IM + MM]	6 (6,9%)	6 (100%)	0 (0 %)	-

Tabelle 16. Verteilung der untersuchten Mutationen.

Verglichen wurden die Wildtypen sowie die Summe der Mutationen, respektive der Minorvarianten von PNPLA3, NOD2, TM6SF und MBOT7 in der Untersuchten Kohorte, sowie die Verteilung bei Patienten mit und ohne eine NAFLD. CHI-Quadrat Test bei Normalverteilung der Parameter.

	Alle (n = 70)	**keine SLD (n = 53)**	**SLD (n = 17)**	**P**
***PNPLA3* p.I148M**				**0,036**
WT [CC]	53 (75,7 %)	34 (64,2%)	6 (35,3%)	-
mutiert [CG + GG]	17 (24,3 %)	19 (35,8%)	11 (64,7%)	-
TM6SF2				0,499
WT [CC] (74)	58 (82,9%)	43 (81,1%)	15 (88,2%)	-
mutiert [CT + TT]	12 (17,1%)	10 (18,9%)	2 (11,8%)	-
MBOAT7				
WT [CC]	26 (37,1%)	21 (39,6%)	5 (29,4%)	0,448
mutiert [CT + TT]	44 (62,9%)	32 (60,4%)	12 (70,6%)	
NOD2				
***NOD2* c.3020iC**				0,201
WT	59 (84,3%)	43 (81,1%)	16 (94,1%)	
mutiert [IM + MM]	11 (15,7%)	10 (18,9%)	1 (5,9%)	
***NOD2* p.R702W**				0,422
WT	58 (82,9%)	45 (84,9%)	13 (76,5%)	
mutiert [IM + MM]	12(17,1%)	8 (15,1%)	4 (23,5%)	
***NOD2* p.G90R**				0,147
WT	64 (91,4%)	47 (88,7)	17 (100%)	
mutiert [IM + MM]	6 (8,6%)	6 (11,3%)	0 (0%)	

Tabelle 17. Darstellung der Verteilung der Untersuchten Mutationen bei Patienten mit MC.

Verglichen wurden die Wildtypen sowie die Summer der Mutationen, respektive der Minorvarianten von PNPLA3, TM6SF und MBOT7 in der Untersuchten Kohorte, sowie die Verteilung bei Patienten mit und ohne eine SLD. CHI-Quadrat Test bei Normalverteilung der Parameter.

	ALAT in U/L	ASAT in U/L	AP in U/L	GGT in U/L
***PNPLA3* (P)**	0.393	0.112	**0.021**	0.198
WT [CC]	27,8 ± 18,2	23,9 ± 7,2	69,3 ± 22,5	30,7 ± 28,9
mutiert [CG + GG]	29 ± 15,9	27 ± 9,5	82,0 ± 27,8	30,1 ± 17
Alle (87)	28.3 ± 17.3	25.13 ± 8.3	74.4±25.4	30.5 ± 24.7
***TM6SF2* (P)**	0,919	0,962	0,065	0,359
WT [CC] (74)	28.2 ± 17.4	25.2 ± 8.5	76.3 ± 25.8	31.0 ±2 4.9
mutiert [CT + TT]	29.9 ± 17.0	24.9 ± 6.9	63.8 ± 20.6	27.3 ± 24.3
Alle (87)	28.3 ± 17.3	25.1 ± 8.3	74.4 ± 25.4	30.5 ± 24.7
***MBOAT7* (P)**	0,682	0,453	0,237	0,778
[CC] (28)	30 ± 21,4	24 ± 7,7	77,5 ± 24,7	31,4 ± 22,7
mutiert [CT + TT]	27,5 ± 15,1	25,6 ± 8,5	73 ± 25,7	30,1 ± 25,7
Alle (87)	28,3 ± 17,3	25,1 ± 8.3	74,4 ± 25,4	30,5 ± 24,7
NOD2				
***NOD2* (c.3020iC) (P)**	0,311	0,170	0,158	**0,024**
WT (75)	27,18 ± 15,2	24,6 ± 8,1	74,3 ± 27,2	28,8 ± 24,3
mutiert [IM + MM]	34,6 ± 24,8	28 ± 9,1	75,23 ± 10,2	40,1 ± 25,2
Alle (87)	28,30 ± 17,3	25,1 ± 18,2	74,44 ± 25,4	30,5 ± 24,7
***NOD2* (p.R702W)**	0,301	0,878	0,237	0,791
WT (75)	28,2 ± 18,1	25,2 ± 8,5	72,6 ± 23,5	31 ± 27,2
mutiert [IM + MM]	28,8 ± 11,4	24,9 ± 7	86,1 ± 3,8	27,2 ± 16,4
Alle (87)	28,3 ± 17,3	25,1 ± 8,3	74,4 ± 25,4	30,5 ± 24,7
***NOD2* (p.G908R)**	0,451	0,557	0,094	0,681
WT (81)	28,7 ± 17,6	25,1 ± 8,4	73,4 ± 25	30,3 ± 24,1
mutiert [IM + MM]	23 ± 10,5	25,8 ± 6,3	88,3 ± 28,8	32,8 ± 33,8
Alle (87)	28,3 ± 17,3	25,1 ± 8,3	74,4 ± 25,4	30,5 ± 24,7

Tabelle 18. MW plus SD der Leberwerte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation.

Weiter dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

	ALAT in U/L	ASAT in U/L	AP in U/L	GGT in U/L
***PNPLA3* (P)**	0.396	0.242	**0.006**	0.076
WT (40)	27,6 ± 18,7	24,6 ± 7,7	68,8 ±22,6	27,2 ±20
mutiert [CG + GG]	29,2 ± 16,6	27,2 ± 9,9	85,4 ± 28,4	31,2 ± 17,7
Alle (70)	28,3 3 ± 17,7	25,7 3 ± 8,7	75,9 3 ± 26,4	28,9 ± 19
***TM6SF2* (P)**	0,785	0,994	0,061	0,134
WT [CC] (74)	28,2 ± 18,1	25,8 ± 9	78,3 ± 26,8	30,6 ± 20,2
mutiert [CT + TT]	27,1 ± 16,2	25,3 ± 7	64,3 ± 21,4	20,9 ± 8
Alle (70)	28,3 ± 17,7	25,7 ± 8,7	21,4 ± 26,4	28,9 ± 19
***MBOAT7* (P)**	0,258	0,276	0,508	0,580
[CC] (26)	31,2 ± 21,7	24,2 ± 8	77,5 ± 25,7	32,2 ± 23,3
mutiert [CT + TT]	26,6 ± 14,9	26,6 ± 9,1	74,9 ± 27	27 ± 16
Alle (70)	28,3 ± 17,7	25,7 ± 8,7	75,9 ± 26,4	28,9 ± 19
NOD2				
***NOD2* (c.3020iC) (P)**	0,258	0,283	0,498	**0,036**
WT (59)	26,8 ± 15,5	24,2 ± 8,5	76,2 ± 28,4	26,5 ± 16,3
mutiert [IM + MM]	36,1 ± 26,5	28,4 ± 9,8	74,1 ± 10,8	41,7 ± 27,3
***NOD2* (p.R702W) (P)**	0,278	0,888	0,293	0,803
WT (58)	28,2 ± 18,8	25,9 ± 9,1	73,8 ± 24,4	29,3 ± 19,6
mutiert [IM + MM]	28,8 ± 11,4	24,9 ± 7	86,1 ± 33,8	27,2 ± 16,4
Alle (70)	28,3 ± 17,7	25,7 ± 8,7	75,9 ± 26,4	28,9 ± 19
***NOD2* (p.G908R) (P)**	0,495	0,698	0,128	0,690
WT (59)	28,8 ± 18,2	25,7 ± 9	74,7 ± 26,1	28,6 ± 17,4
mutiert [IM + MM]	23 ± 10,5	25,8 ± 6,3	88,3 ± 28,8	32,8 ± 33,8
Alle (70)	28,3 ± 17,7	25,7 ± 8,7	75,9 ± 26,4	28,9 ± 19

Tabelle 19. MW plus SD der Leberwerte in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation bei MC-Pat.

Weiter Dargestellt das entsprechenden Weiter Dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.

	Triglyceride in mg/dl	Cholesterin in mg/dl	LDL in mg/dl	HDL in mg/dl
***PNPLA3* (P)**	0,765	0,102	0,062	0,539
WT [CC] (52)	126,4 ± 77,8	177,3 ± 46,5	101,7 ± 41,8	56,9 ± 19,5
mutiert [CG + GG]	126,3 ± 86,4	160,7 ± 34,6	85,09 ± 28,9	56,71 ± 14,9
Alle (87)	126,38 ± 80,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 37,9	56,8 ± 17,7
***TM6SF2* (P)**	0,180	0,536	0,975	0,752
WT [CC] (74)	130,8 ± 83,8	171,4 ± 41,6	95 ± 36,4	56,9 ± 17,9
mutiert [CT + TT]	101 ± 58,3	166,2 ± 50,1	96,1 ± 48,1	55,9 ± 17,1
Alle (87)	126,4 ± 89,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 38	56,8 ± 17,7
***MBOAT7* (P)**	0,180	0,536	0,975	0,752
[CC] (28)	130,8 ± 83,7	171,4 ± 41,6	95 ± 36,4	57 ± 17,9
mutiert [CT + TT]	101 ± 58,3	166,2 ± 50,1	96,1 ± 48,1	55,9 ± 17,1
Alle (87)	126,4 ± 80,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 38	56,8 ± 17,7
NOD2				
***NOD2* (c.3020iC) (P)**	0,078	0,730	0,938	**0,049**
WT (74)	121,7 ± 80,8	171,3 ± 43,2	95,3 ± 39,2	58,2 ± 17,3
mutiert [IM + MM]	153,15 ± 79,4	166,7 ± 41,4	93,9 ± 31,2	49,2 ± 18,5
Alle (87)	126,4 ± 80,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 37,9	56,8 ± 17,7
***NOD2* (p.R702W) (P)**	0,791	0,218	0,087	0,609
WT (75)	127,8 ± 84,2	172,55 ± 42,3	97,2 ± 37,2	56,6 ± 18,1
mutiert [IM + MM]	117,5 ± 58,3	158,3 ± 45,1	82,3 ± 41,9	58 ± 14,9
Alle (87)	126,4 ± 80,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 37,9	56,8 ± 17,7
***NOD2* (p.G90R) (P)**	0,276	0.054	0,140	0,254
WT (81)	126,5 ± 79	172,8 ± 42,9	96,6 ± 38,5	57,6 ± 17,7
mutiert [IM + MM]	124,8 ± 112	140,8 ± 28,9	74,8 ± 22,4	46,8 ± 15,8
Alle (87)	126,4 ± 80,9	170,6 ± 42,7	95,1 ± 37,9	56,8 ± 17,6

Tabelle 20. MW plus SD des Fettstoffwechsels in Abhängigkeit der vorliegenden Mutation.

Weiter Dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter

	Triglyceride in mg/dl	**Cholesterin in mg/dl**	**LDL in mg/dl**	**HDL in mg/dl**
***PNPLA3* (P)**	0,522	0,228	0,164	0,521
WT (40)	131,7 ± 82,9	175,3 ± 46,4	99,8 ± 42,7	56,2 ± 18,7
mutiert [CG + GG]	119,3 ± 74,8	160,5 ± 36,2	85,6 ± 30,7	56,8 ± 13,9
Alle (70)	126,37 ± 79,2	168,9 ± 42,7	93,9 ± 38,5	56,4 ± 16,7
***TM6SF2* (P)**	0,175	0,358	0,737	0,554
WT [CC] (74)	131,6 ± 82	170,5 ± 41,6	94,2 ±36,9	56,8 ± 16,7
mutiert [CT + TT]	101 ± 60,9	161,3 ± 49	92,1 ± 48,3	54,8 ± 17,3
Alle (70)	125,4 ± 79,2	168,9 ± 42,7	48,3 ± 38,5	56,4 ± 16,7
***MBOAT7* (P)**	0,684	0,555	0,350	0,466
[CC] (26)	129,1 ± 73,4	174,6 ± 47,9	100,6 ± 43,8	54,1 ± 17,2
mutiert [CT + TT]	124,8 ± 83,2	165,6 ± 39,5	89,77 ± 34,9	57,82 ± 16,4
Alle (70)	126,4 ± 79,2	168,9 ± 42,7	93,9 ± 38,5	56,4 ± 16,7
NOD2				
***NOD2* (c.3020iC) (P)**	0,170	0,974	0,831	0,232
WT (59)	122,6 ± 79,9	169,1 ± 42,9	93,8 ± 39,7	57,4 ± 16,2
mutiert [IM + MM]	146,6 ± 76	168,2 ± 43,3	94,3 ± 33,1	51,4 ± 19,4
Alle (70)	126,4 ± 79,2	168,9 ± 42,7	93,9 ± 38,5	56,4 ± 16,7
***NOD2* (p.R702W) (P)**	0,821	0,275	0,105	0,591
WT (58)	128,2 ± 83,2	171,1 ± 42,2	96,3 ± 37,7	56,1 ± 17,2
mutiert [IM + MM]	117,5 ± 58,3	158,33 ± 45,1	82,25 ± 41,9	58 ± 14,9
Alle (70)	126,4 ± 79,2	168,9 ± 42,7	93,9 ± 38,5	56,4 ± 16,7
***NOD2* (p.G90R) (P)**	0,324	0,078	0,190	0,275
WT (64)	126,5 ± 76,7	171,6 ± 43	95,7 ± 39,4	57,3 ± 16,6
mutiert [IM + MM]	124,8 ± 112	140,8 ± 28,9	74,83 ± 22,4	46,8 ± 15,8
Alle (70)	126 ± 79,2	168,9 ± 42,7	93,9 ± 38,5	56,4 ± 16,7

Tabelle 21. MW plus SD der Triglyceride, des Cholesterins sowie LDL und HDL bei MC-Pat.

Weiter Dargestellt das entsprechenden Signifikanzniveau. Mann-Whitney-Test Test bei fehlender Normalverteilung der Parameter.