

Universitätsklinikum Ulm  
Zentrum für Innere Medizin  
Klinik für Innere Medizin I  
Ärztlicher Direktor:  
Prof. Dr. med. Thomas Seufferlein

# **Einfluss von Visfatin im Langzeitverlauf auf eine Steatosis hepatis**

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin der Medizinischen  
Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von  
Katharina Johannsen  
Schwelm  
2018

Amtierender Dekan: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Kratzer

2. Berichterstatter: PD Dr. med. Tilmann Gräter

Tag der Promotion: 28.06.2019

Teile dieser Dissertation wurden bereits in dem folgenden Fachartikel veröffentlicht:

Johannsen K, Flechtner-Mors M, Kratzer W, Koenig W, Boehm B O, Schmidberger J, Group for the E-S: Association Between Visfatin and Hepatic Steatosis in the General Population During Long-Term Follow-Up. *Horm Metab Res* (2019)

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>I</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>III</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1 Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung.....	1
1.1.1 Prävalenz .....	2
1.1.2 Pathogenese.....	2
1.1.3 Diagnose.....	3
1.2 Adipozytokine .....	4
1.2.1 Visfatin/ Pre - B - Cell colony enhancing - factor/ Nicotinamid Phosphoribosyltransferase.....	4
1.2.2 PBEF und NAMPT .....	5
1.2.3 Visfatin .....	6
1.3 Korrelation Visfatin mit einer NAFLD .....	6
1.4 Ziele.....	8
<b>2 Material, Methoden und Probanden .....</b>	<b>9</b>
2.1 Studienrahmen .....	9
2.2 Studienkollektiv.....	11
2.3 Studienablauf.....	13
2.4 Bestimmung der Serum - Visfatin - Konzentration.....	17
2.5 Statistische Auswertung .....	18
<b>3 Ergebnisse.....</b>	<b>20</b>
3.1 EMIL - I und EMIL - II im Follow - Up.....	20
3.1.1 Deskriptive Analyse.....	20
3.1.2 Korrelation Visfatin mit einer NAFLD.....	24
3.1.3 Serum - Visfatin - Konzentration .....	27
3.2 EMIL - II - Studie.....	29
3.2.1 Deskriptive Analyse bei Probanden mit und ohne NAFLD im Vergleich .....	29
3.2.2 Korrelation NAFLD mit verschiedenen Parametern .....	31
3.2.3 Korrelation Visfatin mit verschiedenen Parametern .....	33

---

<b>4 Diskussion</b> .....	<b>39</b>
4.1 Visfatin als Parameter für die Diagnose einer NAFLD.....	39
4.2 Visfatin im Follow - Up.....	40
4.3 EMIL - II - Studie: Korrelation Visfatin mit verschiedenen Parametern ..	41
4.4 Schlussfolgerungen .....	45
4.5 Stärken und Schwächen der Studie .....	45
4.6 Ausblick .....	46
<b>5 Zusammenfassung</b> .....	<b>47</b>
<b>6 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>49</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>62</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>65</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>66</b>
<b>Lebenslauf</b> .....	<b>67</b>

## Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin - Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat - Aminotransferase
ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
BMI	Body - Mass - Index
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid
CRP	C - reaktives Protein
DEGS1	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
DNA	deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme - linked Immunosorbent Assay
EMIL	<i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch
HDL	High - density Lipoprotein
HOMA	Homeostasis model assessment
HRP	horseradish (Meerrettichperoxidase)
IgG	Immunoglobulin G
Inc.	incorporated
IL	Interleukin
kDA	KiloDalton
LDL	Low - density Lipoprotein
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NAD	Nicotinamidadenindinukleotid
NAFL	Nicht - alkoholische Fettleber (Non - alcoholic fatty liver)

---

NAFLD	Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung (Non - alcoholic fatty liver disease)
NAMPT	Nicotinamid Phosphoribosyltransferase
NASH	Nicht - alkoholische Steatohepatitis (Non - alcoholic steatohepatitis)
p	probability / p - Wert
PBEF	Pre - B - cell colony - enhancing factor
q	langer Arm des Chromosoms
r	Korrelationskoeffizient
SAS	Statistical Analysis Software
SCF	Stem cell factor
SD	Standartabweichung
Tg	Triglyceride
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF - $\alpha$	Tumor necrosis factor - $\alpha$
U/min	Umdrehungen pro Minute
WC	Waist Circumference
WHR	Waist - to - Hip - Ratio
$\alpha$	alpha
$\gamma$ - GT	Gamma - Glutamyltransferase

# 1 Einleitung

Chronisches Übergewicht und Adipositas stellen ein globales Problem für Gesundheit, Wirtschaft und Gesellschaft dar [21, 22, 116]. Studien aus den USA zeigen, dass die Prävalenz von Übergewicht in der amerikanischen Bevölkerung 2013 und 2014 bei über 70 % lag [97]. Hierbei litten 37,7 % an Adipositas [40]. Auch in Deutschland sind laut der 2011 vom Robert Koch - Institut veröffentlichten „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS1) unter den 18 - 79 - Jährigen 67,1 % der Männer und 53,0 % der Frauen übergewichtig [75]. 23,3 % der Männer und 23,9 % der Frauen seien adipös [75]. Die zunehmende Fettleibigkeit ist mit vielen Komorbiditäten assoziiert, wie beispielsweise Diabetes mellitus Typ II, dem Metabolischen Syndrom und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko [104]. Eine weitere Komorbidität stellt die nicht - alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) dar [6, 22, 115].

## 1.1 Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung

Der Begriff der NAFLD umfasst ein breites Erkrankungsspektrum an Leberveränderungen, die in Abwesenheit von anderen hepatischen Pathologien, beispielsweise chronischen Hepatitiden oder diffusen Hepatopathien, auftreten [92, 115]. Zur Abgrenzung von der alkoholischen Fettleber ist sie definiert für Patienten mit einem Alkoholkonsum von  $< 30$  g/d bei Männern bzw.  $< 20$  g/d bei Frauen [6, 115]. Die NAFLD ist stark verknüpft mit Komponenten des Metabolischen Syndroms, wie Adipositas, Insulinresistenz, Diabetes mellitus, Dyslipidämien und Bluthochdruck [14, 54, 115]. Aus diesem Grund wird sie häufig als dessen hepatische Manifestation bezeichnet [34, 41, 47].

Die NAFLD wird in drei Krankheitsgrade unterteilt: Die nicht - alkoholische Fettleber (NAFL) stellt die mildeste Form der NAFLD dar. Sie umfasst die einfache Steatose der Hepatozyten ab einem Verfettungsgrad von  $\geq 5$  % [20, 107]. Sie kann, abhängig von der Anzahl der von Fetteinlagerungen betroffenen Hepatozyten, in drei Steatose Grade eingeteilt werden: Mild (5 -  $\leq 33$  % der Hepatozyten sind betroffen), mäßig ( $> 33$  -  $\leq 66$  % der Hepatozyten sind betroffen) oder schwer ( $> 66$  % der Hepatozyten sind betroffen) [19]. Wenn neben der Steatose auch andere histologische Pathologien, wie Ballonierung, Nekroapoptose und entzündliche,



granulozytäre Infiltrate gefunden werden, spricht man von einer nicht-alkoholischen Steatohepatitis (NASH) [20, 27, 107]. Das Endstadium der NAFLD ist die globale mikronoduläre Leberzirrhose [12, 21, 68]. Eine seltene, aber wichtige Komplikation der NAFLD ist die Entwicklung eines hepatozellulären Karzinoms [3, 12, 68, 110].

### **1.1.1 Prävalenz**

Die NAFLD ist die häufigste Ursache chronischer Lebererkrankungen in der industrialisierten Welt [4, 10, 18, 88, 112]. Die in der Literatur beschriebenen Prävalenzen fallen je nach Studie und Untersuchungsmethode sehr unterschiedlich aus [110]. Younossi et al. schätzen in ihrem systematischem Review 2016, dass global etwa 25 % der Gesamtpopulation an einer NAFLD leiden [117]. Betroffen ist vor allem die übergewichtige Population mit 70 - 95 %, sowie 70 % der Patienten mit Diabetes mellitus Typ II [28, 100]. Die höchsten Prävalenzen fänden sich laut Younossi et al. in Südafrika und im mittleren Osten, die niedrigsten in Afrika [117]. Von einer NASH seien hingegen nur etwa 1,5 - 6,45 % der Gesamtpopulation betroffen, wobei 7 - 30 % der Patienten mit einer NAFLD eine NASH entwickeln würden [110, 117]. Weitere Studien schätzen, dass es bei 3 - 5 % der an einer Steatose und 10 - 29 % der an einer NASH erkrankten Patienten im Laufe ihrer Erkrankung zu einer Leberzirrhose komme [20, 27]. 4 - 27 % der durch NASH induzierten Zirrhosen entwickeln sich weiter zu einem hepatozellulären Karzinom [27, 87].

### **1.1.2 Pathogenese**

Der hepatische Lipidmetabolismus wird reguliert durch Aufnahme, Export, Synthese und Oxidation von freien Fettsäuren und Triglyceriden [54]. Überwiegen Aufnahme und Synthese den Export, kommt es zu einer vermehrten Akkumulation von Triglyceriden in den Hepatozyten. 1998 veröffentlichten Day et al. ihre „two - hits“ - Hypothese, ein Versuch die Pathogenese und Progression der NAFLD zu beschreiben [33]. Heute geht man von der „multiplen - hits“ - Theorie aus, die neben den von Day beschriebenen Ursachen noch weitere Faktoren berücksichtigt [21, 68]. Insulinresistenz initiiert den ersten „Hit“, die Steatose [33, 68]. Bei fehlender Insulinsensitivität kommt es durch fehlende Inhibition zu vermehrter Sezernierung von freien Fettsäuren aus Fettgewebe und Muskelzellen [12, 68]. Diese werden

über die Portalvene der Leber zugeführt, importiert und intrahepatisch in Form von Triglyceriden gespeichert [21, 68]. Durch die fehlende Inhibition des Insulins ist die intrahepatische Synthese freier Fettsäuren durch eine vermehrt ablaufende Glykolyse gesteigert, wohingegen der stimulierende Effekt des Insulins auf die Lipogenese nicht vermindert ist [17]. Der genaue Pathomechanismus der so entstehenden Steatose bis zur Progression einer NASH und einer möglichen Leberfibrose ist noch nicht ausreichend geklärt. Die „multiple - hits“ - Theorie geht davon aus, dass mehrere verschiedene „second - hits“ Ursache für das Fortschreiten der Erkrankung sein könnten [21, 68]. Zu ihnen zählt man unter anderem Sauerstoffradikale, die akzidentiell bei der Oxidation freier Fettsäuren in Mitochondrien oder Peroxisomen entstanden sind und zu einer Schädigung des Lebergewebes führen [68]. Weitere mögliche „second - hits“ sind neben inflammatorischen Mediatoren und Apoptosemechanismen, Endotoxine mitochondriale Dysfunktion und eine genetische Prädisposition [6, 24, 26, 29, 68, 85, 113].

### **1.1.3 Diagnose**

Die NAFLD verläuft im Anfangsstadium in der Regel klinisch still [108]. Einige Patienten berichten über unspezifische Symptome, wie beispielsweise Fatigue, Völlegefühl oder Schmerzen im rechten Oberbauch [4]. Die NAFLD wird häufig akzidentiell oder im Zuge von Routine - Untersuchungen durch sonographische Darstellung oder erhöhte Leberwerte entdeckt [12, 108, 115]. Hierbei sind zumeist die Alanin - Aminotransferase (ALT) und die Aspartat - Aminotransferase (AST) erhöht [54, 108]. Auch die Gamma - GT ( $\gamma$  - GT) und die alkalische Phosphatase (AP) können im Rahmen einer NAFLD angestiegen sein [4, 108]. Die Prothrombinzeit, Bilirubin und Albumin hingegen sind meistens erst im Stadium der Zirrhose verändert [108].

Die Sonographie nimmt eine zentrale Rolle in der Diagnostik der NAFLD ein, da sie nicht invasiv und kostengünstig jederzeit zur Verfügung steht [65, 102]. Limitiert wird ihre Aussagekraft durch Meteorismus und Adipositas [65, 96, 108]. Zudem ist die Sonographie in hohem Maße abhängig von der Erfahrung des Untersuchers [66, 96, 101]. Goldstandard in der Diagnostik der NAFLD ist die Leberbiopsie und die damit histologische Differenzierung der Probe [87, 89]. Allerdings ist die Entnahme

von Proben aus dem Leberparenchym eine teure und invasive Methode, bei der es zudem häufig zur Entnahme insuffizienter Proben kommt [87]. Die Leberbiopsie sollte daher für den Patienten mit sonographisch gesicherter Steatose und Verdacht auf NASH vorbehalten sein [89].

## 1.2 Adipozytokine

In den vergangenen Jahren ist die Erforschung des viszeralen Fettgewebes mehr und mehr in den Fokus der Wissenschaft geraten [83, 89]. Im Zuge der epidemischen Expansion von Übergewicht und Fettleibigkeit in den westlichen Industrie-, sowie in den Schwellenländern leiden immer mehr Menschen neben Fetteinlagerungen im subkutanen Fettgewebe auch an einer vermehrten intraabdominellen Akkumulation von Triglyceriden [104].

Neben seinen Funktionen als Energie- und Thermolieferant wird das Fettgewebe als wahrscheinlich größtes endokrines Organ im menschlichen Körper angesehen [83]. Präadipozyten, Adipozyten und in das Fettgewebe eingewanderte Immunzellen, produzieren in großen Mengen bioaktive Moleküle, die sogenannten Adipokine / -zytokine [30, 109]. Diese können als exokrine, parakrine oder autokrine Signalmoleküle auf den Organismus einwirken [83]. Die bis heute mehr als 600 Mitglieder umfassende, heterogene Gruppe an Adipokinen beinhaltet unter anderem Hormone, Zytokine, Komplement- und Wachstumsfaktoren, extrazelluläre Matrixproteine, sowie vasoaktive Substanzen [37, 67, 83]. Die Sekretion von Adipokinen hat sowohl lokale, als auch systemische Auswirkungen [83]. Im Fettgewebe modulieren sie beispielsweise die Adipogenese und die Immigration von Immunzellen [15]. Systemisch können sie auf den Energiehaushalt, die Insulinsekretion und Insulinsensitivität, den Appetit, den Blutdruck, sowie auf inflammatorische und immunologische Prozesse Einfluss nehmen [2, 32, 37, 56, 72].

### 1.2.1 Visfatin/ Pre - B - Cell colony enhancing - factor/ Nicotinamid Phosphoribosyltransferase

Das 52 kDa umfassende Protein Visfatin / Pre - B - Cell colony enhancing - factor (PBEF) / Nicotinamid Phosphoribosyltransferase (NAMPT) ist auf dem langen Arm des Chromosoms 7 (7q22) codiert [79]. Es stellt ein hoch konserviertes Protein dar,

welches unter anderem in Bakterien, Säugetieren, Vögeln, Amphibien, Fischen, Drosophila und Mollusken nachgewiesen werden konnte [11, 43, 73, 74, 77, 103]. Das Vorhandensein von mindestens einem heterogenen Gensatz ist laut Fukuhara et al. lebensnotwendig, eine Depletion beider Gene in der Embryonalphase habe sich letal auf murine Modelle ausgewirkt [44].

Nahezu jede Gewebeart kann Visfatin / PBEF / NAMPT produzieren und sezernieren. Hauptbildungsorte sind jedoch das viszerale Fettgewebe und in dieses eingewanderte Makrophagen, Leber, Skelettmuskulatur und aktivierte Immunzellen [30, 44, 94]. Abhängig von seinem Bildungsort kann das Protein unterschiedliche biologische Rollen ausüben [83]. So wirkt es intrazellulär als Enzym (NAMPT), extrazellulär als Zytokin (PBEF) oder Adipozytokin (Visfatin) [83]. Aktuell wird das Protein mit vielen inflammatorischen Erkrankungen, wie zum Beispiel mit Typ II Diabetes mellitus, Rheumatoider Arthritis, Arteriosklerose, Herzinfarkten, Ischämien des Gehirns, ARDS, Sepsis, Psoriasis und bei der Tumorgenese in Zusammenhang gebracht [9, 25, 32, 55, 58, 61, 62, 72, 78, 81, 114].

### **1.2.2 PBEF und NAMPT**

Samal et al. gelang 1994 die Isolierung des vermutlich proinflammatorischen Zytokins Pre - B - Cell colony enhancing - factor (PBEF) aus einer Knochenmark cDNA - Bibliothek [94]. Sie postulierten, dass PBEF von aktivierten Lymphozyten aus dem Knochenmark sezerniert werde, um die frühe B - Zell Reifung synergistisch mit IL - 7 und dem Stammzellofaktor (SCF) zu stimulieren [94]. Spätere Studien zeigten, dass neben den B - Zellen und T - Zellen auch Monozyten, Makrophagen, Neutrophile, sowie epitheliale und endotheliale Zellen, ausgelöst durch einen mikrobiellen Stimulus, PBEF sezernieren können [38, 42, 58, 79, 98, 105, 114].

2001 gelang Martin et al. die Identifizierung des bakteriellen Nicotinamidadenindinukleotid Gens (NadV), welches große Homologien zum PBEF Gen aufwies [73]. Ihre Hypothese, NadV codiere das Enzym NAMPT, welches den geschwindigkeitslimitierenden Schritt im Salvage - Pathway für die Biosynthese von Nicotinamidadenindinukleotid (NAD) katalysiert, bestätigten Rongvaux et al. 2002 [91]. NAD ist ein wichtiges Coenzym für den Zellmetabolismus, es reguliert auf

zellulärer Ebene unter anderem Apoptose, DNA - Replikation und Reparatur, sowie die Angiogenese und den Energiemetabolismus [91].

### **1.2.3 Visfatin**

2005 gelang Fukuhara et al. die Isolation des Adipozytokins Visfatin. Seine Namensgebung verdankt das Protein der Tatsache, dass es laut den Autoren bevorzugt vom viszeralem, weniger vom subkutanen Fettgewebe sezerniert werde. So korreliere die Plasmakonzentration von Visfatin streng mit der Menge an viszeralem Fettgewebe und steige bei zunehmender Fettleibigkeit der Probanden an. Auch bei KKay Mäusen, ein murines Modell für Übergewicht und Typ II Diabetes mellitus, erhöhe sich bei zunehmendem Körperumfang die Plasma - Visfatin - Konzentration. Ursächlich hierfür sei eine gesteigerte Expression von Visfatin im viszeralem Fettgewebe, die Expression von Visfatin in Leber und subkutanem Fettgewebe hingegen sei kaum beeinflusst. [44]

Im Kontrast hierzu konnten andere Studien keine Dominanz des viszeralen Fettgewebes in der Expression von Visfatin im Vergleich zu subkutanem Fettgewebe feststellen [13, 49, 109]. Zwar bestehe laut Berndt et al. eine positive Korrelation zwischen zirkulierendem Visfatin und Parametern des Übergewichtes (Body - Mass - Index (BMI), prozentuales Körpergewicht), nicht aber mit Parametern der intraabdominellen Fettleibigkeit, wie Taillenumfang (WC) oder Waist - to - Hip - Ratio (WHR) [13]. Die Plasma - Visfatin - Konzentration orientiere sich demnach eher an der Zunahme der Gesamtmasse des Fettgewebes und weniger an der Menge des viszeralen Fettgewebes [13].

## **1.3 Korrelation Visfatin mit einer NAFLD**

Dauerhafte hochkalorische Zufuhr von Nahrungsmitteln führt zu einer chronisch positiven Energiebalance, die zu einer Zunahme von subkutanem und viszeralem Fettgewebe führen kann. Letzteres ist charakterisiert durch eine Verfettung der inneren Organe, wie beispielsweise Leber und Verdauungstrakt. Zudem kann die vermehrte Akkumulation von Triglyceriden zu einer gestörten Adipozytenfunktion führen, welche durch eine Adipozytenhypertrophie, Inflammation des Fettgewebes und ektopische Fettakkumulation charakterisiert ist [37]. Die Folge kann eine dysregulierte Adipozytensekretion sein [37, 48, 56]. Zudem kommt es zu einer

erhöhten Migration von Makrophagen und anderer Immunzellen ins Fettgewebe [83]. Beides resultiert in einer vermehrten Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen (z.B. Il - 6), sowie zu einer verminderten Ausschüttung von antiinflammatorischen Zytokinen (z.B. Il - 10) und anti - steatotischen Adipozytokinen (z.B. Adiponektin) [83]. Ergebnis ist eine geringe, aber chronische Inflammation des subkutanen und viszeralen Fettgewebes, die für kardiale, metabolische und inflammatorische Komorbiditäten des Übergewichts verantwortlich gemacht wird [48]. Ob auch die Expression des Adipozytokins Visfatin verändert ist und welche Rolle es bei der Genese und Progression der NAFLD spielt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert.

Mehrere Publikationen konnten einen Anstieg der Plasma - Visfatin - Konzentration bei Vorliegen einer NAFLD nachweisen [1, 8, 23, 57, 69, 80, 90]. Hieraus folgerte ein Großteil der Autoren, dass Visfatin eine proinflammatorische Rolle in der Entstehung einer NAFLD spiele [1, 8, 23, 70, 80, 90]. Unterstützt wurde diese Hypothese durch Untersuchungsergebnisse, die einen positiven Zusammenhang zwischen Visfatin und dem proinflammatorischen Zytokin Il - 6, sowie CRP aufzeigten [8, 90]. Zudem konnten Moschen et al. ein Anstieg der Produktion des proinflammatorischen Zytokins TNF -  $\alpha$  nach Zugabe von rekombinantem Visfatin in humanen Monozyten nachweisen [76]. Jarrar et al. argumentierten demgegenüber, dass Visfatin möglicherweise eine hepatoprotektive Rolle in der Genese einer NAFLD einnehmen könne [57]. Sie beobachteten ein Absinken des Visfatin - Spiegels bei der Progression zu einer NASH [57].

Auch Genc et al. gehen von einer beschützenden Rolle des Adipozytokins aus [46]. Zwar konnten sie in ihrer Studie keinen Unterschied der Plasma - Visfatin - Konzentration zwischen NAFLD - Patienten und gesunden Probanden, sowie zwischen den einzelnen histologischen Subgruppen der NAFLD nachweisen, aber sie berichteten von einer negativen Korrelation zwischen Visfatin und dem proinflammatorischen Zytokin TNF -  $\alpha$  [46]. Sie vermuteten deswegen, dass Visfatin zumindest in der frühen Phase der NAFLD indirekt hepatoprotektiv wirke, indem es TNF -  $\alpha$  antagonisiere [46]. Aller et al. konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Visfatin und einer NAFLD nachweisen [2]. Interessanterweise zeigten sie aber eine Korrelation zwischen Visfatin und portaler Inflammation auf [2]. Sie schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, Visfatin könne eine direkte

inflammatorische oder insulinmimetische Rolle spielen. Um auszuschließen, dass der Anstieg des Adipozytokins ein Epiphänomen der ohnehin inflammatorischen Gesamtsituation der Probanden ist, müssten weitere Studien folgen [2]. In der Literatur fanden sich neben den oben genannten Autoren noch weitere Studien, die keine Korrelation zwischen Visfatin und einer NAFLD nachweisen konnten [64, 84, 99].

Nur wenige Veröffentlichungen konnten einen negativen Zusammenhang der zwei Parameter darstellen [31, 45]. Dahl et al. beobachteten ein Absinken der Visfatin - Konzentration bei NAFLD - Patienten, unabhängig ob eine NASH oder eine einfache Steatose vorliege [31]. Sie vermuteten, dass bei guter Leberfunktion weniger Visfatin produziert werde [31]. Unterstützt wird diese Hypothese durch Ergebnisse von de Boer et al., die eine verminderte Visfatin - Konzentration bei Patienten mit einer Zirrhose festgestellt hatten [16]. Auch Gaddipati et al. zeigten eine negative Korrelation zwischen Visfatin und dem Vorhandensein einer NAFLD auf [45]. Sie postulierten ein Absinken des Visfatin - Spiegels um 60 % bei einfacher Steatose, um 70 % bei moderater Steatose und um 80 % bei einer NASH [45].

## 1.4 Ziele

Im Zuge der *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) Studien I und II, die in den Jahren 2002 und 2013 in Leutkirch stattgefunden haben, bestand die Möglichkeit in einer großangelegten, randomisierten und bevölkerungsbasierten Follow - Up - Studie Probanden mit einer NAFLD zu detektieren und deren Serum - Visfatin - Konzentrationen zu bestimmen.

Ziel war es mithilfe einer großen Probandenanzahl einen Beitrag zur kontrovers diskutierten Rolle des Visfatins bei der Genese einer NAFLD zu leisten. Sollte es gelingen, einen Zusammenhang zwischen Visfatin und einer NAFLD nachzuweisen, könnte Visfatin in Zukunft als Parameter für die Diagnose einer NAFLD herangezogen werden und damit eine Alternative zur Leberbiopsie darstellen. Zudem bestand durch das Studiendesign die Möglichkeit, Patienten mit einer NAFLD nach elf Jahren erneut zu untersuchen und mögliche Veränderungen des Visfatin - Spiegels zu dokumentieren.

## 2 Material, Methoden und Probanden

### 2.1 Studienrahmen

#### Studientyp, Ziel - und Störgrößen

Die EMIL - II - Studie ist eine prospektive Follow - Up - Studie der vom 04. November bis zum 07. Dezember 2002 in Leutkirch stattgefundenen EMIL - I - Studie (*Echinococcus multilocularis* in Leutkirch). Hauptziele der randomisierten, bevölkerungsbasierten Querschnittstudie EMIL - I waren der „Vergleich der Prävalenz positiver Antikörpertiter gegen *Echinococcus multilocularis* Rohantigen, sowie der Erkrankungen an alveolärer Echinokokkose bei der Stadtbevölkerung von Leutkirch mit den Prävalenzen in einem ländlichen Endemiegebiet (Römerstein) und Ermittlung der Prävalenz positiver Antikörpertiter gegen FSME (Frühsommer - Meningoenzephalitis)“ (siehe Studienplan EMIL - I im Anhang).

Die vom 17. Juni bis zum 26. September 2013 stattgefundene EMIL - II - Studie diente der Nachuntersuchung der Probanden der EMIL - I - Studie mit und ohne Steatosis hepatis unter Einbezug des BMIs.

Im Einzelnen wurden im Rahmen der EMIL - II - Studie folgende Haupt - und Nebenziele verfolgt:

Hauptziele:

- Gegenüberstellung zweier Subgruppen:
  - 1.) schlanke Probanden mit NAFLD (BMI < 25)
  - 2.) adipöse Probanden ohne NAFLD (BMI > 30)

Erhoben wurden anthropometrische Daten, Laborwerte, Stuhlproben zur genetischen Testung von spezifischen Bakterienstämmen und sonographische Untersuchungsbefunde.

Nebenziele:

- Nachuntersuchungen von Steatosis hepatis, Gallenblasensteinen und Gallenblasenpolypen, anthropometrischen Daten und Blutwerten.



Die Daten der Studie wurden zum einen durch eine Ultraschalluntersuchung erhoben, in der morphologische Leberveränderungen und Leberfunktionsstörungen festgestellt wurden. Des Weiteren wurde ein standardisiertes Interview und ein vierwöchiges Ernährungsprotokoll durchgeführt, sowie anthropometrische und laborchemische Werte durch eine Blutuntersuchung gesammelt. Zusätzlich erfolgte eine Stuhluntersuchung.

Die folgenden Erläuterungen konzentrieren sich auf die für die Fragestellung, dem Zusammenhang einer Steatosis hepatis mit dem Adipozytokin Visfatin, relevanten Schritte.

### **Einschlusskriterien**

Es wurden nur Probanden zur Studie zugelassen, bei denen die ausgefüllte Teilnahmebereitschaft und Einverständniserklärung, der ausgefüllte Interviewbogen, die Blut- und Stuhlproben, alle anthropometrischen Daten und das Ernährungsprotokoll vorlagen.

### **Ausschlusskriterien**

Nicht analysiert wurden die Daten von Probanden, bei denen eine positive Hepatitis - Serologie, eine vorbekannte Lebererkrankung, ein übermäßiger Alkoholkonsum (> 40 g/d bei Männern, > 20 g/d bei Frauen), eine erhöhte Transferrin - Sättigung oder eine Schilddrüsenfehlfunktion festgestellt wurde.

### **Ethikvotum**

Die EMIL - II - Studie erhielt das positive Votum der Ethikkommission Landesärztekammer Baden - Württemberg 2013 (Antrag Nr. 244 / 13 - Fa / bal.).

### **Risiken der Studie**

Die Studie ist insgesamt risikoarm. Die Blutentnahme stellt einen minimal invasiven Eingriff dar und wurde nur durch geschultes Personal mit großer Erfahrung durchgeführt. Die wahrscheinlichsten Komplikationen der Entnahme aus der Cubitalvene sind die Ausbildung eines Hämatoms an der Einstichstelle oder das Auftreten leichter Übelkeit. Die Probanden mussten schriftlich der Blutentnahme zustimmen und konnten die Untersuchung jederzeit auf eigenen Wunsch abbrechen.

## Abbruchkriterien

Vier Fehlversuche bei der Punktion der Cubitalvene führten zum Abbruch.

## 2.2 Studienkollektiv

### Auswahl der Studienpopulation

Die Grundlage des EMIL - II - Kollektivs bildet die 2002 durchgeführte EMIL - I - Studie in Leutkirch. Hierzu wurden aus dem Einwohnermeldeamt Leutkirch randomisiert 4000 Probanden im Alter zwischen 10 - 65 Jahren ausgewählt und kontaktiert. 2445 Personen erklärten sich zur Teilnahme an der Studie bereit. Insgesamt konnten nach Ausschluss von Probanden ohne Angabe zur Präsenz einer NAFLD 2429 Personen in die Studie integriert werden. Das Studienkollektiv wurde anhand des Fettleberstatus und BMIs in verschiedenen Subgruppen unterteilt:

### EMIL - I - Studie 2002 (n = 2429)

Tabelle 1: Studienkollektiv der *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) Studie 2002 der Universität Ulm (NAFLD = Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung, BMI = Body - Mass - Index)

Keine NAFLD (n = 1803)	NAFLD (n = 626)
BMI < 25 (n = 1248)	BMI < 25 (n = 70)
25 ≤ BMI < 30 (n = 445)	25 ≤ BMI < 30 (n = 277)
BMI ≥ 30 (n = 110)	BMI ≥ 30 (n = 279)

Nach Ausschluss von Probanden mit unvollständigen Datensätzen, sowie der Subgruppe „Keine NAFLD“ mit einem BMI von  $< 25$  kamen als Studienkollektiv für die EMIL - II - Studie noch 999 Probanden in Frage, die sich folgendermaßen einteilten:

### EMIL - II - Studie 2013 (n = 999)

Tabelle 2: Studienkollektiv der *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) Studie 2013 der Universität Ulm (NAFLD = Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung, BMI = Body - Mass - Index)

Keine NAFLD (n = 490)	NAFLD (n = 509)
BMI $< 25$ (n = 0)	BMI $< 25$ (n = 56)
$25 \leq \text{BMI} < 30$ (n = 398)	$25 \leq \text{BMI} < 30$ (n = 234)
BMI $\geq 30$ (n = 92)	BMI $\geq 30$ (n = 219)

Letztendlich stellten sich 484 Probanden für die Studie zur Verfügung. Von den restlichen 515 möglichen Probanden waren 38 bereits verstorben, 477 zeigten kein Interesse oder konnten nicht kontaktiert werden. 403 der 484 möglichen Probanden konnten anschließend in die Studie integriert werden. Weitere Ausschlusskriterien waren: fehlende Laborparameter (n = 17), fehlende anthropometrische Daten (n = 2), erhöhter Alkoholkonsum (m  $> 40$  g/d, w  $> 20$  g/d, n = 60), Hepatitis B / C (n = 5) und Hämochromatose (n = 1) (Abbildung 1).

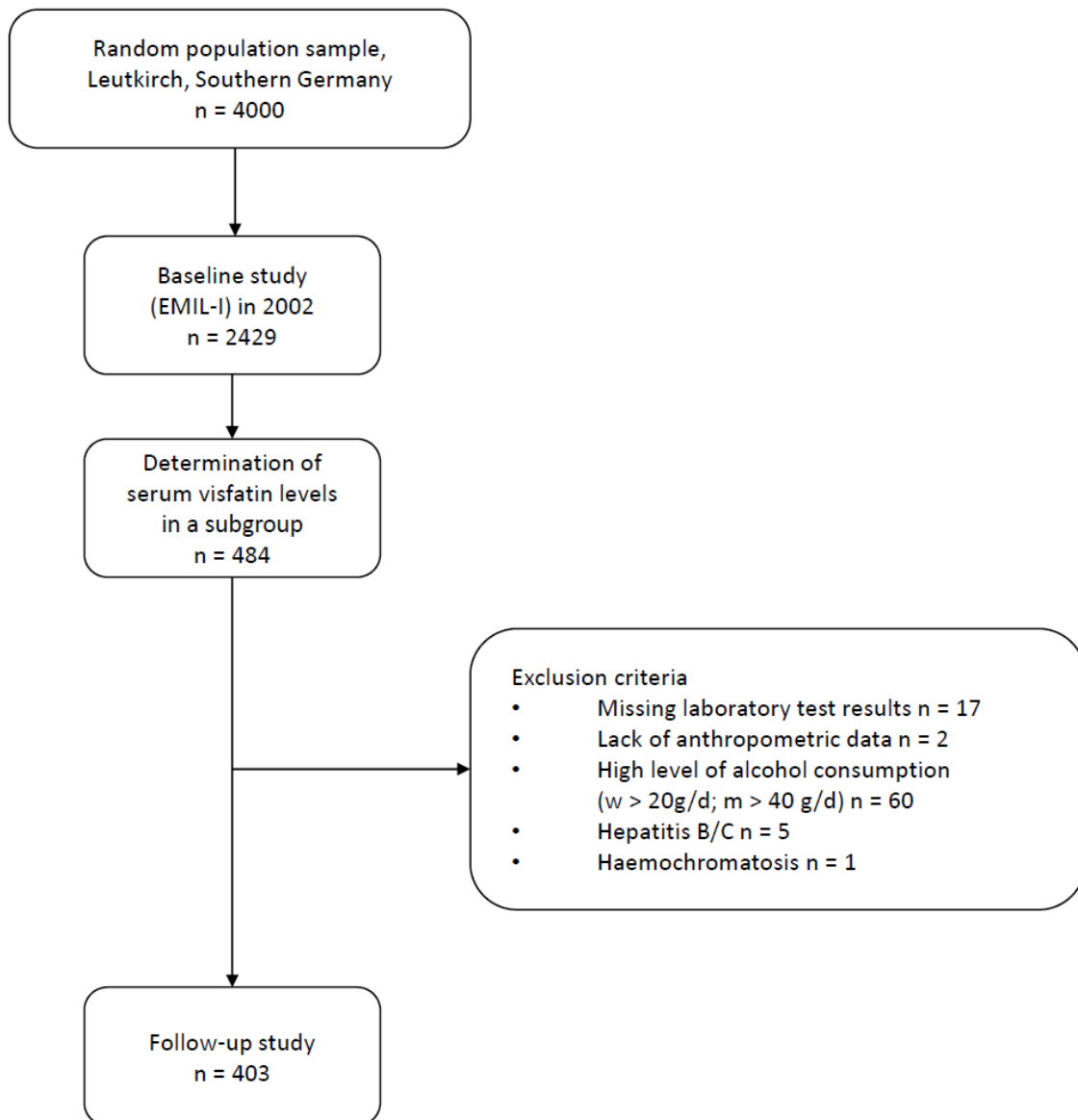


Abbildung 1: Follow-up study population from the Ulm University studies on *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2002 and in 2013 (w = women, m = men)

Diese Graphik wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60]

## 2.3 Studienablauf

### Ort und Zeit der Erhebung

Die EMIL - II - Studie fand vom 17. Juni bis zum 26. September 2013 in den Räumlichkeiten der ehemaligen Oberschwabenklinik Leutkirch (Ottmannshoferstraße 44 in 88299 Leutkirch) statt.

## **Organisation**

Die ehemalige Oberschwabenklinik Leutkirch stellte zwei Räume zur Verfügung, von welchen eines als Untersuchungszimmer und das andere als Lagerraum und Labor genutzt wurde. Das Untersuchungszimmer war ausgestattet mit einem Ultraschallgerät der Firma Philip IU 22, sowie einer handelsüblichen Waage, einem Meterstab und Material zur Blutentnahme. Das Labor beinhaltete eine Tischzentrifuge (Labofuge GL, Heraeus CHRIST), sowie einem Gefrierschrank der Marke Heraeus, Kendro (Typ HFU 486 Basic) zur Aufbewahrung der Blutproben. Zusätzlich diente das Untersuchungszimmer der Aufbewahrung der Utensilien zur Blutentnahme und zum Pipettieren.

Die möglichen Probanden wurden telefonisch kontaktiert und ausführlich über Abläufe, Ziele und Hintergründe der Studie informiert. Bei Interesse der Probanden wurde auf freiwilliger Basis ein Untersuchungstermin vereinbart. Probanden, die keine Telefonnummer besaßen oder telefonisch nicht erreichbar waren, wurden schriftlich über die EMIL - II - Studie informiert und gebeten sich telefonisch zurückzumelden, falls Teilnahmeinteresse bestehe.

Zum Zeitpunkt des Untersuchungstermins wurden die Probanden erneut mündlich über die anstehenden Untersuchungen, sowie den Zeitaufwand von ca. 60 Minuten aufgeklärt. Zuerst erfolgte das schriftliche Einverständnis der Probanden, anschließend wurde der leicht veränderte EMIL - I Fragebogen in Form eines standardisierten Interviews ausgefüllt.

Um eine Anonymisierung der Probanden zu gewährleisten, wurde jedem Teilnehmer eine Nummer (z.B.: EMIL - 2 - LK - 2013 - XXXX) zugeteilt, unter welcher alle erhobenen Daten und Befunde der Universität Ulm zugesandt wurden. Die Probanden konnten auf Nachfrage ihre Laborergebnisse einsehen, falls ein behandlungsdürftiger Befund auftrat, wurden die Probanden automatisch unterrichtet.

## **Information und Aufklärung**

Nach der telefonischen Aufklärung der Probanden über die Ziele und den Umfang der Studie, erfolgte eine weitere mündliche Aufklärung am Tage der Untersuchung. Hierzu erhielt jeder Proband ein Aufklärungsschreiben, ein Informationsschreiben, sowie eine Einverständniserklärung für die Teilnahme und zur

Datenschutzerklärung. Diese wurden vor Beginn der Studie bei Einwilligung zur freiwilligen Teilnahme vom Probanden unterzeichnet.

### **Blutentnahme**

Die Blutentnahme erfolgte mithilfe eines Butterflys in der Cubitalvene oder alternativ am Handrücken des Probanden. Die Punktion wurde entweder von einem Arzt oder von medizinisch geschultem Personal unter Aufsicht eines Arztes durchgeführt.

Insgesamt wurde ein Blutvolumen von ca. 60 ml entnommen, welches sich auf zwei Serum - Gel - Monovetten, eine Citrat - Monovette, eine Lithium - Heparin - Monovette, drei große und zwei kleine EDTA - Monovetten aufteilte.

Alle Monovetten wurden mit dem für den Patienten spezifischen Barcode, welcher die Teilnehmernummer der einzelnen Probanden beinhaltet, anonymisiert und für die Auswertung entweder in der Klinischen Chemie (eine Serum - Gel - Monovette, die Citrat - Monovette, die Lithium - Heparin - Monovette, sowie die zwei kleine EDTA - Monovetten) oder im Forschungslabor für Innere Medizin I der Universität Ulm (die drei große EDTA - Monovetten, eine Serum - Gel - Monovette) aufbewahrt.

Nach Abnahme des Labors wurden die Proben 30 Minuten stehend gelagert und anschließend, mit Ausnahme der zwei kleinen EDTA - Monovetten, bei Raumtemperatur mit 3500 U / min 15 Minuten lang zentrifugiert. Bei den großen EDTA - Monovetten und der Serum - Gel - Monovette für das Forschungslabor Ulm wurde daraufhin das Plasma abpipettiert und auf acht Sarstedt - Röhrchen (je zwei Sarstedt - Röhrchen pro Monovette) verteilt. Diese wurden anschließend bei - 80 °C im Gefrierschrank gelagert. Der Transport dieses Materials an das Forschungslabor erfolgte erst nach Ende der Studie in speziellen Kryoboxen, um die Kühlkette der Proben nicht zu unterbrechen. Die großen EDTA - Monovetten dienen der DNA - Analyse, die Serum - Gel - Monovette als Reserve für mögliche weitere Analysen.

Die Monovetten, die an die Klinische Chemie geliefert werden sollten, wurden nach der Zentrifugation bei 4 - 8 °C im Kühlschrank stehend gelagert und abendlich zusammen mit den bei Raumtemperatur gelagerten, nicht zentrifugierten kleinen EDTA - Monovetten, ebenfalls stehend verschickt. Die Proben wurden jeweils über Nacht in der Klinischen Chemie weiterverarbeitet. Die Restproben der Lithium -

Heparin - Monovette, sowie der Serum - Gel - Monovette wurden am Folgetag in das Forschungslabor Innere Medizin I weitergeleitet, in Alliquots umgefüllt und eingefroren. Jeweils ein Alliquot pro Proband diente nach Abschluss der Studie zur Serologiebestimmung von Hepatitis B und C im virologischen Labor der Universität Ulm.

Die Ergebnisse der Laborbefunde aus der Klinischen Chemie wurden den Probanden nach Ablauf der Studie schriftlich mitgeteilt.

### **Standardisierter Fragebogen**

Als Vorlage für den standardisierten Fragebogen der EMIL - II - Studie wurde der Fragebogen aus der EMIL - I - Studie verwendet. Er dient vor allem zur Überprüfung der Ausschlusskriterien, wie bereits bestehende Lebererkrankungen, bestehende Hepatitis B oder C Infektion, sowie dem übermäßigen Genuss von Alkohol.

Der Fragebogen umfasste Fragen zur Person, zur Krankheitsgeschichte, zum Essverhalten und zu Genussmitteln, sowie Fragen zur Familiengeschichte. Weibliche Probanden mussten weiterhin Angaben zu bestehenden oder vorangegangenen Schwangerschaften, der Einnahme von Kontrazeptiva und zu ihrem Zyklus beantworten. Die Fragen wurden von einem Studienbetreuer mündlich abgefragt und schriftlich festgehalten. (siehe Anhang)

### **Anthropometrische Datenerfassung**

Die EMIL - II - Studie umfasste folgende anthropometrische Daten: Körpergröße, WC, WHR, Gewicht und BMI.

Das Körpergewicht wurde mittels handelsüblicher Personenwaagen bestimmt. Der Proband wurde hierfür gebeten, Jacke, Pullover und Schuhe auszuziehen, sowie sich allen anderen schweren Gegenständen zu entledigen. Das Körpergewicht wurde in kg gemessen.

Für die Messung der Körpergröße wurde ein an der Wand befestigter Meterstab verwendet. Die Messung erfolgte ohne das Tragen von Schuhen. Die Probanden wurden gebeten sich mit dem Rücken zur Wand zu stellen. Der Messwert wurde mittels eines geraden Hilfsgegenstandes im rechten Winkel zur Horizontalen ermittelt. Die Körpergröße wurde in m angegeben.

Zuletzt wurde die WC in Expirationsstellung gemessen. Als Messpunkt galt die Mitte zwischen der letzten palpablen Rippe und dem Beginn des Beckenkamms. Die Messung erfolgte zweimal, lag der Messunterschied innerhalb eines Zentimeters, wurde der Mittelwert bestimmt, lag der Messfehler höher, musste die Untersuchung wiederholt werden.

Aus den erhobenen Werten konnte anschließend der BMI, sowie die WHR mit Hilfe standardisierter Formeln der WHO ermittelt werden.

### **Sonographische Befundung**

Zur sonographischen Befundung diente ein Ultraschallgerät der Firma Philips GmbH (Modell: IU22). Die Untersuchungen wurden von erfahrenem Studienpersonal ausgeführt, bei Fragen stand jederzeit ein gut ausgebildeter Supervisor zur Verfügung. Die Befunde wurden den Probanden direkt mündlich mitgeteilt.

Um möglichst gute Schallbedingungen zu erlangen, wurden die Probanden gebeten, nüchtern zur Untersuchung zu erscheinen. Die Untersuchung fand im Liegen statt, wobei der rechte Arm der Probanden jeweils unter den Kopf gelegt wurde, um die Intercostalräume, sowie den Abstand zwischen Beckenkamm und Rippenbogen zu vergrößern. Weitere Maßnahmen, um die Schallbedingungen zu verbessern, waren die Durchführung des Schalls bei tiefer Inspiration, sowie bei vorgepresster Bauchdecke.

## **2.4 Bestimmung der Serum - Visfatin - Konzentration**

Die Bestimmung der Serum - Visfatin - Konzentrationen erfolgte in der Klinischen Chemie der Universität Ulm. Die Messungen wurde mithilfe des Human Visfatin (Namp) ELISA Kit der Firma BioVendor (Best. Nr. RAG004R) durchgeführt, bei dem zur quantitativen in vitro Bestimmung ein Sandwich - ELISA - Verfahren angewendet wird.

Auf eine im Kit enthaltene, mit monoklonalen Antikörpern gegen humanes Visfatin beschichtete 96 - Mikrotiterplatte, wurden zunächst jeweils 100 µl der zu untersuchenden, unverdünnten Patientenseren aufgetragen und über Nacht bei 4 °C inkubiert. Anschließend erfolgten drei Reinigungen mit jeweils 300 µl bereit gestellter Puffer - Lösung zur Beseitigung ungebundener Bestandteile. Die über



Nacht an den Testplatten gebundenen Visfatinmoleküle dienten im folgenden Schritt als Antigene für je 100 µl Primärantikörper. Nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten bei 37 °C erfolgte ein dreimaliger Waschschrift (je 300 µl Puffer - Lösung). Anschließend wurde dem nun entstandenen Antikörper - Antigen - Antikörper - Komplex je 100 µl mit HRP (Meerrettichperoxidase) konjugierter Anti - Rabbit - IgG - Antikörper als Sekundärantikörper zugeführt. Diese banden in der anschließenden 60 - minütigen Inkubationszeit bei 37 °C an die Primärantikörper. Abschließend erfolgte eine fünfmalig durchgeführte Reinigung mit je 300 µl Wasch - Puffer. Zur optischen Quantifizierung der Visfatinkonzentration erfolgte nun die Zugabe von je 100 µl Tetramethylbenzidine (TMB) - Lösung, welche als Substrat für die durch HRP ausgelöste Peroxidase Reaktion dient und eine Farbreaktion induziert. Diese wurde nach 10 Minuten durch Hinzufügen von 100 µl einer Stopp - Lösung beendet. Innerhalb der anschließenden 30 Minuten wurde die Farbintensität mittels eines ELISA Reader der Firma Molecular Devices bei 450 nm ermittelt und die jeweilige Visfatin - Konzentration durch einen vom Hersteller vorgegebenem Analysealgorithmus berechnet.

Das Procedere erfolgte bei jeder Probe in doppelter Ausfertigung. Zudem wurden die Ergebnisse durch jeweils zeitgleich durchgeführte Kontrollen bei 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 und 8 ng/ml Nampt kontrolliert. Zur Berechnung der Visfatin - Konzentration diente der Mittelwert beider Proben.

Die niedrigste messbare Konzentration des Visfatins durch das hier verwendete Analyseverfahren liegt bei 30 pg/ml. Das Ergebnis kann durch schwache Kreuzreaktionen (5 %, bzw. 15 %) mit Mäuse - oder Ratten - Visfatin limitiert sein.

## **2.5 Statistische Auswertung**

Für die statistischen Berechnungen wurde die Statistik Software SAS 9.2 (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) angewendet. Zuerst erfolgte eine deskriptive Auswertung der Daten. Bei stetigen Merkmalen wurde der Mittelwert (MW), die Standardabweichung (SD), der Median, sowie Minimum und Maximum ermittelt. Nominale und ordinalskalierte Daten wurden mittels absoluten Häufigkeiten dargestellt. Ein Boxplot - Diagramm diente der graphischen Veranschaulichung der Lage - und Streuungsmaße. Für die Prüfung der Daten auf Normalverteilung wurde der Shapiro - Wilk - Test angewendet. Für nicht-

normalverteilte Daten wurde bei zwei Gruppen der Wilcoxon - Rangsummen - Test und bei mehr als zwei Gruppen der Kruskal - Wallis - Test verwendet. Die Rangkorrelation nach Spearman diente der Berechnung der Korrelation verschiedener Parameter. Bei verbundenen Daten wurde der Vergleich mit Hilfe des Wilcoxon - Vorzeichen - Tests durchgeführt. Alle Tests wurden zweiseitig durchgeführt. Das Signifikanzniveau lag bei  $\alpha = 5 \%$ . Signifikante Ergebnisse werden in den folgenden Tabellen dick markiert.

## 3 Ergebnisse

Im Folgenden werden zunächst die Follow - Up Ergebnisse der EMIL - I und EMIL - II - Studien ausgewertet. Anschließend werden ausgewählte Nachuntersuchungen der EMIL - II - Studie veranschaulicht, um weitere mögliche Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern mit Visfatin zu detektieren.

### 3.1 EMIL - I und EMIL - II im Follow - Up

#### 3.1.1 Deskriptive Analyse

##### Alters - und Geschlechtsverteilung

Das untersuchte Studienkollektiv umfasste 403 Probanden, 212 (52,61 %) männliche und 191 (47,39 %) weibliche (Tabelle 9). Das Durchschnittsalter lag 2002 bei  $47,46 \pm 11,38$  (MW  $\pm$  SD) Jahren, 2013 bei  $58,14 \pm 11,36$  (MW  $\pm$  SD) Jahren (Tabelle 3).

##### Nationalität

94,04 % der Probanden waren deutscher, 1,49 % türkischer und 4,47 % anderer Herkunft (Tabelle 9).

##### Prävalenz Steatosis hepatis

In der EMIL - I - Studie konnte bei 221 (54,84%), in der EMIL - II - Studie bei 207 Probanden (51,36 %) eine Steatosis hepatis sonographisch nachgewiesen werden. Die beiden Gruppen unterschieden sich mit einem p - Wert von  $p = 0,2108$  nicht statistisch signifikant (Tabelle 3).

In der Verlaufsbeobachtung des EMIL - I - Kollektivs konnten 160 der NAFLD - Probanden bis 2013 keine Verbesserung ihres Leberstatus erreichen (72,4 %). Bei 61 der Probanden (27,6 %) hingegen konnte im Zuge der EMIL - II - Studie keine NAFLD mehr festgestellt werden. 47 der 2002 noch als lebergesund befundeten Probanden wiesen 2013 eine Fettleber auf. Die restlichen 135 Probanden wiesen sowohl in EMIL - I, als auch in EMIL - II keine Fettleber auf (Abbildung 2).

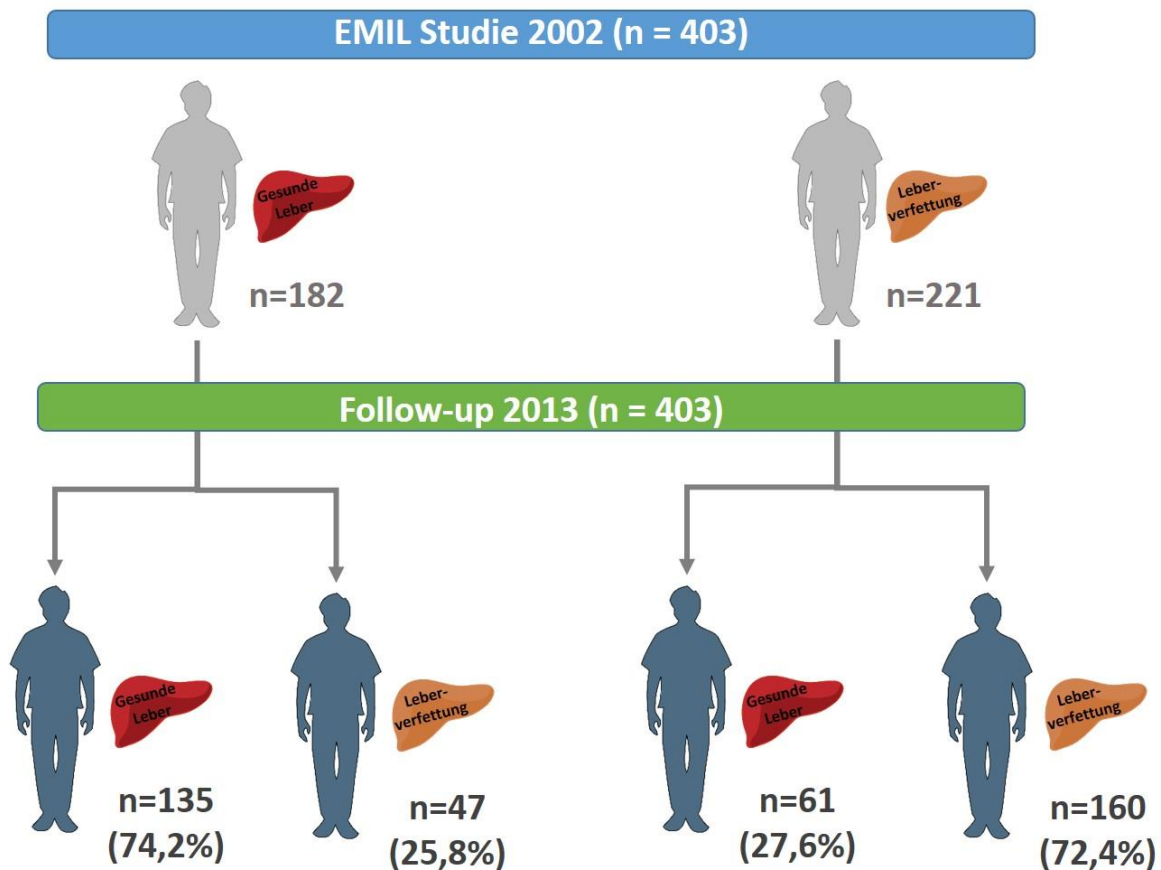


Abbildung 2: Verlaufsbeobachtung der Präsenz einer NAFLD bei Probanden aus den Studien der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2002 und 2013

### Hypertonie

Bei 102 (25,31 %) der Probanden fand sich 2002 eine Hypertonie. 2013 erhöhte sich die Anzahl der befundeten Hypertoniker statistisch signifikant ( $p < .0001$ ) auf 182 (45,16 %). Von neun Probanden 2002 (2,23 %) und fünf Probanden 2013 (1,24 %) waren keine Angaben erhältlich (Tabelle 3).

### BMI

Das Studienkollektiv zeigte 2002 im Mittel einen BMI von  $29,09 \pm 4,21 \text{ kg/m}^2$  (MW  $\pm$  SD). Im Durchschnitt stieg dieser Wert bis 2013 statistisch signifikant ( $p < .0001$ ) auf  $30,27 \pm 4,94 \text{ kg/m}^2$  (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 3).

**Waist - to - Hip - Ratio (WHR)**

Die WHR in der EMIL - I - Studie lag im Durchschnitt bei  $0,88 \pm 0,08$  (MW  $\pm$  SD). 2013 stieg dieser Wert statistisch signifikant ( $p < .0001$ ) auf  $0,92 \pm 0,09$  (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 3).

**Triglyceride**

Bei der Bestimmung der Triglyceride konnte ein statistisch signifikanter Anstieg ( $p < .0001$ ) zwischen EMIL - I und EMIL - II von  $1,94 \pm 1,43$  mmol/l (MW  $\pm$  SD) auf  $2,69 \pm 0,40$  mmol/l (MW  $\pm$  SD) beobachtet werden (Tabelle 3).

**HDL**

In der Verlaufsbeobachtung des HDLs zeigte sich zwischen 2002 ( $1,45 \pm 0,40$  mmol/l) und 2013 ( $1,49 \pm 0,42$ ) ein signifikanter Anstieg ( $p = 0.0045$ ) (Tabelle 3).

**Diabetes mellitus**

2002 war bei 2,48 % der untersuchten Probanden ein Diabetes mellitus bekannt. Bis 2013 stieg der Anteil der Diabetiker signifikant ( $p < .0001$ ) auf 11,41 % an. 2002 war von 0,50 % der Teilnehmer keine Aussage zum Vorhandensein eines Diabetes zu erfragen, 2013 von 0,25 % (Tabelle 3).

**HOMA**

Der durchschnittliche HOMA - Wert lag 2002 bei  $2,82 \pm 3,58$  (MW  $\pm$  SD). Bei zunehmender Anzahl von Diabetikern in der EMIL - II - Studie, steigerte sich der durchschnittliche Wert statistisch signifikant ( $p < .0001$ ) auf  $3,34 \pm 3,62$  (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 3).

Tabelle 3: Comparison of subject characteristics in 2002 and 2013 (SD = standard deviation; min = minimum; max = maximum; BMI = body mass index; HOMA = homeostasis model assessment)

Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60]

	<b>2002</b>	<b>2013</b>	<b>p-value</b>
	<b>Frequency (%)</b>	<b>Frequency (%)</b>	
Hepatic steatosis			0.2108
<i>No</i>	182 (45.16)	196 (48.64)	
<i>Yes</i>	221 (54.84)	207 (51.36)	
Diabetes			<0.0001
<i>No</i>	391 (97.02)	356 (88.34)	
<i>Yes</i>	10 (2.48)	46 (11.41)	
<i>No information</i>	2 (0.50)	1 (0.25)	
Hypertension			<0.0001
<i>No</i>	292 (72.46)	216 (53.60)	
<i>Yes</i>	102 (25.31)	182 (45.16)	
<i>No information</i>	9 (2.23)	5 (1.24)	
	<b>Mean ± SD</b>	<b>Mean ± SD</b>	<b>p-value</b>
	<b>Median (min - max)</b>	<b>Median (min - max)</b>	
Age (years)	47.46 ± 11.38	58.14 ± 11.36	<0.0001
	49.0 (15.0–64.0)	59.0 (26.0–75.0)	
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.09 ± 4.21	30.27 ± 4.94	<0.0001
	27.92 (21.40–52.62)	29.23 (20.55–60.20)	
Waist-to-hip ratio	0.88 ± 0.08	0.92 ± 0.09	<0.0001
	0.88 (0.69–1.16)	0.92 (0.66–1.76)	
Triglycerides	1.94 ± 1.43	2.69 ± 0.40	<0.0001
	1.50 (0.50–14.0)	2.60 (1.80–4.40)	
HDL	1,45 ± 0,40	1,49 ± 0,42	0.0045
	1,40 (0,50 - 3,20)	1,40 (0,60 - 3,30)	
HOMA	2.82 ± 3.58	3.34 ± 3.62	<0.0001
	1.93 (0.34–42.72)	2.42 (0.50–40.17)	

### 3.1.2 Korrelation Visfatin mit einer NAFLD

#### EMIL - I

##### *Univariate und partielle Analyse*

Im EMIL - I - Kollektiv konnte keine Korrelation zwischen Visfatin und einer Steatosis hepatis festgestellt werden. Mit einem p - Wert von  $p = 0.0967$  und einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,08285$  in der univariaten, sowie einem p - Wert von  $p = 0.4369$  und einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,03903$  in der partiellen Korrelationsmatrix (berücksichtigte hier die Parameter WHR, BMI und Geschlecht) konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (Tabelle 4).

Tabelle 4: Partial correlation (taking body mass index, Waist-to-Hip Ratio and sex into account) of the serum visfatin concentration with sonographic presence of hepatic steatosis in 2002  
Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60]

	<b>Correlation coefficient (r)</b>	<b>p-value</b>
<b>Visfatin 2002</b>	0.03903	0.4369

### Visfatin in Abhängigkeit zum Steatose Grad

In der EMIL - I - Studie konnte mit einem p - Wert von  $p = 0.9966$  keine Korrelation zwischen dem Grad der Verfettung und Visfatin beobachtet werden (Tabelle 5).

Tabelle 5: Serum visfatin concentrations in relation to the degree of steatosis in 2002  
Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60]

	Mean $\pm$ SD			p-value
	Median (min-max)			
	No fatty liver	Grade I	Grade II / III	
<b>Visfatin 2002*</b>	2.63 $\pm$ 1.80	2.70 $\pm$ 1.90	2.46 $\pm$ 1.30	0.9966
	2.08 (0.61–13.5)	2.22 (0.07–10.5)	2.12 (0.41–7.05)	

\*Vergleich Keine Fettleber vs. Fettleber Grad I:  $p = 0.9987$ ; Vergleich keine Fettleber vs. Fettleber Grad II / III:  $0.9674$ ; Vergleich Fettleber Grad I vs. Fettleber Grad II / III:  $p = 0.9115$

### EMIL - II

#### Univariate und partielle Analyse

Im EMIL - II - Kollektiv konnte keine, bzw. eine sehr geringe Korrelation zwischen Visfatin und einer Steatosis hepatis festgestellt werden. Zwar war der p - Wert in der univariaten Korrelationsmatrix mit  $p = 0.0003$  statistisch signifikant, die Korrelation konnte aber unter Berücksichtigung des Korrelationskoeffizienten ( $r = 0,17975$ ) vernachlässigt werden. In der partiellen Korrelation war mit einem p - Wert von  $p = 0.1312$  und einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,07570$  kein Zusammenhang nachweisbar (Tabelle 6).

Tabelle 6: Partial correlation (taking body mass index, Waist-to-Hip Ratio and sex into account) of the serum visfatin concentration with sonographic presence of hepatic steatosis in 2013  
Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60]

	Correlation coefficient (r)	p-value
<b>Visfatin 2013</b>	0.07570	0.1312



### Visfatin in Abhängigkeit zum Steatose Grad

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Ergebnissen aus EMIL - I konnte 2013 ein statistisch signifikanter Anstieg des Visfatins ( $p < .0001$ ) abhängig vom Grad der Leberverfettung festgestellt werden. Hierbei war der Vergleich von Non - NAFLD - Probanden und Probanden mit einer NAFLD Grad II / III, sowie die Gegenüberstellung NAFLD - Patienten Grad I mit NAFLD - Patienten Grad II / III mit  $p < .0001$ , bzw.  $p = 0.0047$  statistisch signifikant. Keine Signifikanz wies der Vergleich zwischen Non - NAFLD - Probanden mit NAFLD - Patienten Grad I ( $p = 0.2043$ ) auf (Tabelle 7, Abbildung 3).

Tabelle 7: Serum visfatin concentrations in relation to the degree of steatosis in 2013

Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60]

	Mean $\pm$ SD			p-value
	Median (min-max)			
	No fatty liver	Grade I	Grade II / III	
<b>Visfatin 2013*</b>	3.62 $\pm$ 3.84	4.02 $\pm$ 3.51	5.19 $\pm$ 4.76	<0.0001
	2.89 (0.30–40.40)	2.96 (0.07–26.20)	4.41 (0.16–41.30)	

\*Comparison of no fatty liver vs grade I fatty liver:  $p = 0.2043$ ; comparison of no fatty liver vs grade II/ III fatty liver:  $p < 0.0001$ ; comparison of grade I fatty liver vs grade II/ III fatty liver:  $p = 0.0047$ .

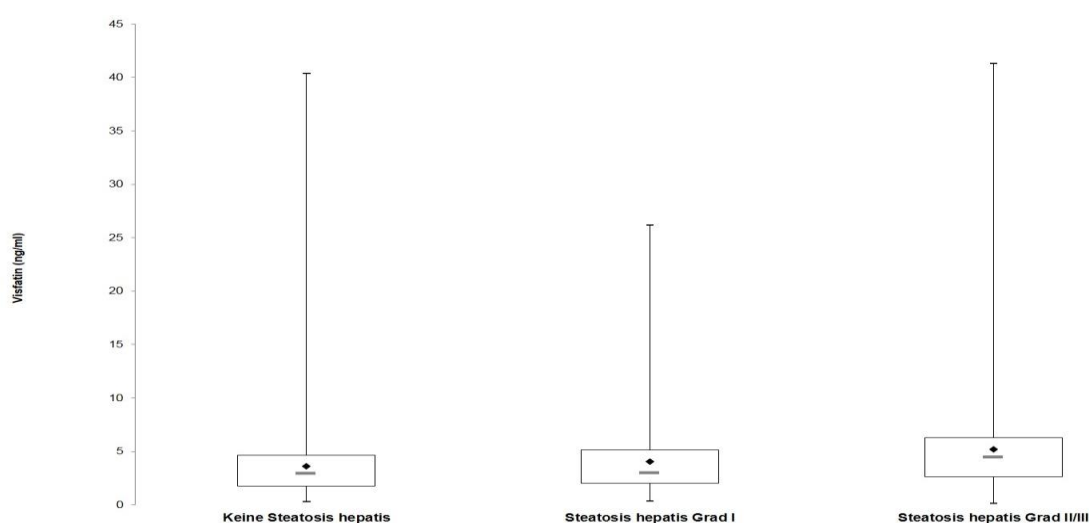


Abbildung 3: Boxplot: Serum - Visfatin - Konzentration in Abhängigkeit zum Steatose Grad aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013

### 3.1.3 Serum - Visfatin - Konzentration

Insgesamt stieg von 2002 bis 2013 die durchschnittliche Serum - Visfatin - Konzentration statistisch signifikant ( $p < .0001$ ) von  $2,59 \pm 1,67$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) auf  $4,12 \pm 4,06$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 8).

Im Folgendem werden verschiedene Untergruppen, abhängig von ihren sonographischen Befunden 2002 und 2013, sowie den jeweilig gemessenen Visfatin - Konzentrationen miteinander verglichen.

#### Probanden ohne NAFLD 2002 und 2013

Im Vergleich der Visfatin - Konzentrationen von Probanden, bei denen sowohl 2002, als auch 2013 keine NAFLD festgestellt wurde ( $n = 135$ ), konnte ein statistisch signifikanter Anstieg ( $p < .0001$ ) des Visfatins von 2002 ( $2,43 \pm 1,42$  ng/ml (MW  $\pm$  SD)) auf 2013 ( $3,41 \pm 2,53$  ng/ml (MW  $\pm$  SD)) beobachtet werden (Tabelle 8).

#### Probanden ohne NAFLD 2002 und mit NAFLD 2013

In der Gegenüberstellung von Probanden, die 2002 noch lebergesund waren und im Verlauf der Studie eine NAFLD entwickelten ( $n = 47$ ), konnte ein statistisch signifikanter Unterschied der Visfatin - Konzentrationen mit  $p = 0.0109$  festgestellt werden. Die 2002 noch morphologisch unauffälligen Teilnehmer kamen im Mittel auf eine Visfatin - Konzentration von  $3,21 \pm 2,53$  ng/ml (MW  $\pm$  SD), 2013 erreichten die zwischenzeitlich an einer Fettleber erkrankten Probanden einen Wert von  $5,15 \pm 5,01$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 8).

#### Probanden mit NAFLD 2002 und ohne NAFLD 2013

Bei 61 Studienteilnehmern konnte 2002 eine Steatosis hepatis festgestellt werden, 2013 hingegen nicht mehr. Die Probanden wiesen 2002 im Durchschnitt eine Visfatin - Konzentration von  $2,72 \pm 4,08$  ng/ml (MW  $\pm$  SD), 2013 eine Konzentration von  $4,08 \pm 5,76$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) auf. Der  $p$  - Wert liegt bei  $p = 0.0539$  (Tabelle 8).

#### Probanden mit NAFLD 2002 und 2013

Statistisch signifikant ( $p < .0001$ ) war der Unterschied zwischen Probanden, die 2002 und 2013 an einer NAFLD litten. 2002 lagen die Visfatin - Werte im Mittel bei  $2,49 \pm 1,46$  ng/ml (MW  $\pm$  SD), 2013 bei  $4,43 \pm 3,94$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 8).

Tabelle 8: Serum - Visfatin - Konzentration im Follow - Up aus den Studien der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2002 und 2013 (SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum)

	<b>2002</b>	<b>2013</b>	p - Wert
	Mittelwert $\pm$ SD Median (Min - Max)	Mittelwert $\pm$ SD Median (Min - Max)	
Visfatin (n = 403)	2,59 $\pm$ 1,67 2,12 (0,07 - 13,50)	4,12 $\pm$ 4,06 3,16 (0,07 - 13,50)	<b>&lt; .0001</b>
Vergleich Visfatin bei Probanden die <u>2002</u> und <u>2013</u> <u>keine</u> Fettleber hatten (n = 135)	2,43 $\pm$ 1,42 1,97 (0,61 - 7,64)	3,41 $\pm$ 2,53 2,89 (0,30 - 21,60)	<b>&lt; .0001</b>
Vergleich Visfatin bei Probanden die <u>2002</u> <u>keine</u> Fettleber hatten aber <u>2013</u> eine Fettleber entwickelt haben (n = 47)	3,21 $\pm$ 2,53 2,51 (0,88 - 13,50)	5,15 $\pm$ 5,01 3,64 (0,07 - 26,20)	<b>0.0109</b>
Vergleich Visfatin bei Probanden die <u>2002</u> <u>eine</u> Fettleber hatten aber <u>2013</u> <u>keine</u> mehr (n = 61)	2,72 $\pm$ 4,08 2,20 (0,41 - 10,50)	4,08 $\pm$ 5,76 2,96 (0,44 - 40,40)	0.0539
Vergleich Visfatin bei Probanden die <u>2002</u> und <u>2013</u> <u>eine</u> Fettleber hatten (n = 160)	2,49 $\pm$ 1,46 2,12 (0,07 - 6,62)	4,43 $\pm$ 3,94 3,53 (0,16 - 41,30)	<b>&lt; .0001</b>

## 3.2 EMIL - II - Studie

### 3.2.1 Deskriptive Analyse bei Probanden mit und ohne NAFLD im Vergleich

#### Alters - und Geschlechtsverteilung, Nationalität

Patienten mit einer Fettleber waren im Schnitt drei Jahre älter als lebergesunde Probanden ( $p = 0.0118$ ). Beide Geschlechter ( $p = 0.6741$ ), sowie alle hier untersuchten Nationalitäten ( $p = 0.3313$ ) verteilten sich gleichmäßig auf beide Gruppen (Tabelle 9).

#### Hypertonie

Über die Hälfte (55,07 %) der NAFLD Patienten waren an einer Hypertonie erkrankt. Im Vergleich hierzu litten lediglich ein Drittel der lebergesunden Probanden zusätzlich an einem Hypertonus (34,69 %) (Tabelle 9).

#### BMI, WHR, Triglyceride, HDL

In der Subgruppe der NAFLD - Probanden konnte im Vergleich zu lebergesunden Probanden bei den Parametern BMI ( $p < .0001$ ), WHR ( $p < .0001$ ) und Triglyceride ein statistisch signifikanter ( $p = 0.0499$ ) Anstieg nachgewiesen werden. Zudem sank die HDL mit einem  $p$  - Wert von  $p < .0001$  statistisch signifikant (Tabelle 9).

#### Diabetes mellitus und HOMA

Unter den NAFLD - Patienten litten 16,43 % zusätzlich an einem Diabetes mellitus. In der lebergesunden Kontrollgruppe waren es 6,12 % ( $p = 0.0012$ ). Dieser signifikante Unterschied spiegelte sich auch im HOMA - Wert wider. So kamen die NAFLD - Patienten im Mittel auf  $4,38 \pm 4,57$  (MW  $\pm$  SD) Punkte, die Kontrollgruppe auf  $2,25 \pm 1,60$  (MW  $\pm$  SD) (Tabelle 9).

Tabelle 9: Vergleich Probandendaten bei Patienten mit und ohne NAFLD aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum, BMI = Body - Mass - Index, HDL = High - density Lipoprotein, HOMA = Homeostasis model assessment)

<b>2013</b>	<b>Fettleber nein (n = 196; 48,64 %)</b>	<b>Fettleber ja (n = 207; 51,36 %)</b>	
<b>Mittelwert ± STD</b>			<b>p - Wert</b>
<b>Median (Min - Max)</b>			
Alter	56,63 ± 11,73 57,0 (26,0 - 75,0)	59,57 ± 10,83 61,0 (27,0 - 75,0)	<b>0.0118</b>
BMI	28,67 ± 4,14 28,07 (20,55 - 46,48)	31,77 ± 5,17 30,82 (22,96 - 60,20)	<b>&lt; .0001</b>
Waist-to-Hip-Ratio	0,89 ± 0,08 0,90 (0,66 - 1,18)	0,95 ± 0,09 0,95 (0,76 - 1,76)	<b>&lt; .0001</b>
Geschlecht			
<i>weiblich</i>	95 (48,47 %)	96 (46,38 %)	0.6741
<i>männlich</i>	101 (51,53 %)	111 (53,62 %)	
Diabetes			
<i>nein</i>	184 (93,88 %)	172 (83,09 %)	<b>0.0012</b>
<i>ja</i>	12 (6,12 %)	34 (16,43 %)	
<i>keine Angabe</i>	0	1 (0,48 %)	
Hypertonie			
<i>nein</i>	127 (64,80 %)	89 (43,00 %)	<b>&lt; :0001</b>
<i>ja</i>	68 (34,69 %)	114 (55,07 %)	
<i>keine Angabe</i>	1 (0,51 %)	4 (1,93 %)	
Nationalität			
<i>deutsch</i>	186 (94,90 %)	193 (93,24 %)	0.3313
<i>türkisch</i>	1 (0,51 %)	5 (2,42 %)	
<i>andere</i>	9 (4,59 %)	9 (4,35 %)	
Visfatin	3,62 ± 3,84 2,89 (0,30 - 40,40)	4,60 ± 4,21 3,53 (0,07 - 41,30)	<b>0.0003</b>
Triglyceride	2,65 ± 0,39 2,60 (2,00 - 4,40)	2,73 ± 0,41 2,70 (1,80 - 4,20)	<b>0.0499</b>
HDL	1,59 ± 0,41 1,60 (0,70 - 2,70)	1,39 ± 0,42 1,30 (0,60 - 3,30)	<b>&lt; .0001</b>
HOMA	2,25 ± 1,60 1,75 (0,50 - 14,44)	4,38 ± 4,57 3,26 (0,83 - 40,17)	<b>&lt; .0001</b>

### 3.2.2 Korrelation NAFLD mit verschiedenen Parametern

Die oben genannten statistisch signifikant veränderten Parameter bei Probanden mit einer NAFLD (Tabelle 9) wurden im Folgenden auf eine Korrelation mit Visfatin untersucht.

#### Univariate Korrelation

##### *Alter*

Die Korrelation zwischen Alter und einer Steatosis hepatis war sehr gering, zwar war der p - Wert mit  $p = 0.0097$  statistisch signifikant, aber bei einem Korrelationskoeffizienten mit  $r = 0,12566$  zu vernachlässigen (Tabelle 10).

##### *BMI, WHR, HDL, HOMA*

BMI, WHR, HDL und HOMA zeigten mit einem p - Wert von  $p < .0001$  eine statistisch signifikante Korrelation mit einer NAFLD. Unter Berücksichtigung des Korrelationskoeffizienten konnte eine schwach bis mäßige Korrelation mit allen Parametern aufgezeigt werden. Die Tg zeigten mit  $p = 0,0498$  und  $r = 0,09781$  keine, bzw. eine nur sehr geringe Korrelation mit einer NAFLD auf (Tabelle 10).

Tabelle 10: Univariate Korrelation Steatosis hepatis mit verschiedenen Parametern aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index, HDL = High - density Lipoprotein, HOMA = Homeostasis model assessment)

2013	Steatosis hepatis Korrelationskoeffizient p - Wert
Alter	0,12566 <b>0.0097</b>
BMI	0,34298 <b>&lt; .0001</b>
Waist - to - Hip - Ratio	0,32958 <b>&lt; .0001</b>
Triglyceride	0,09781 <b>0.0498</b>
HDL	- 0,26113 <b>&lt; .0001</b>
HOMA	0,44566 <b>&lt; .0001</b>

## Partielle Korrelationsmatrix

### *Metabolische Merkmale*

Unter Berücksichtigung der Parameter Alter, Geschlecht, BMI, und WHR hatten Tg ( $p = 0.0293$ ) und HDL ( $p = 0.0217$ ) statistisch signifikante  $p$  - Werte, diese konnten aber unter Bezugnahme der Korrelationskoeffizienten vernachlässigt werden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Partielle Korrelation Steatosis hepatis mit verschiedenen Parametern aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (HDL = High - density Lipoprotein, HOMA = Homeostasis model assessment)

2013	Steatosis hepatis	
	Korrelationskoeffizient	p - Wert
Triglyceride	0,10909	<b>0.0293</b>
HDL	- 0,11489	<b>0.0217</b>
HOMA	0,17963	<b>0.0003</b>

### 3.2.3 Korrelation Visfatin mit verschiedenen Parametern

#### Alter

Mit Werten von  $p = 0.06568$  und  $r = 0,1883$  in der univariaten, sowie  $p = 0.6330$  und  $r = 0,02395$  in der partiellen Korrelation konnte kein Zusammenhang zwischen den Parametern Alter und Visfatin festgestellt werden (Tabelle 12).

Tabelle 12: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Alter aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	Alter Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	0,06568 0.1883
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt WHR, Geschlecht, BMI)</b>	
Visfatin	0,02395 0.6330

#### Hypertonie

Es konnte keine, bzw. eine nur sehr geringe Korrelation zwischen Hypertonie und Visfatin in der univariaten Korrelation festgestellt werden ( $p = 0.0043$ ,  $r = 0,14206$ ) Unter Berücksichtigung der Parameter Alter, Geschlecht und BMI ließ sich keine signifikante Korrelation ( $p = 0.3981$  und  $r = 0,04242$ ) mehr nachweisen (Tabelle 12).

Tabelle 13: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Hypertonie aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index)

2013	Hypertonie Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	0,14206 <b>0.0043</b>
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI)</b>	
Visfatin	0,04242 0.3981



## BMI

Visfatin und BMI wiesen sowohl in der univariaten, als auch in der partiellen Korrelation (berücksichtigt hier die Parameter Alter, Geschlecht, WHR) einen statistisch signifikanten p - Wert von  $p < .0001$  auf. Bei einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,27589$  in der univariaten Korrelation konnte von einer schwachen bis mäßigen Korrelation ausgegangen werden. Bei der partiellen Korrelation unter Berücksichtigung des Alters, des Geschlechts und der WHR konnte mit  $r = 0,19762$  nur noch eine sehr geringe Korrelation nachgewiesen werden (Tabelle 14).

Tabelle 14: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit BMI aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	<b>BMI</b> Korrelationskoeffizient p - Wert
<b><i>Univariate Korrelationsmatrix</i></b>	
Visfatin	0,27586 <b>&lt; .0001</b>
<b><i>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, Waist - to - Hip - Ratio)</i></b>	
Visfatin	0,19762 <b>&lt; .0001</b>

Bei der Gegenüberstellung der einzelnen BMI - Subgruppen konnte ein signifikanter Anstieg ( $p < .0001$ ) in Abhängigkeit zum steigenden BMI beobachtet werden. Die Subgruppe BMI  $< 25$  ( $n = 35$ ) wies einen durchschnittlichen Visfatin - Wert von  $3,22 \pm 2,74$  ng/ml (MW  $\pm$  SD), die Gruppe  $25 > \text{BMI} < 30$  ( $n = 189$ ) einen Wert von  $3,68 \pm 4,10$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) und die Untergruppe mit BMI  $> 30$  ( $n = 179$ ) einen Wert von  $4,76 \pm 4,14$  ng/ml (MW  $\pm$  SD) auf.

Ein statistisch signifikanter Anstieg war nur beim Vergleich der Subgruppen BMI  $< 25$  mit BMI  $> 30$  mit einem p - Wert von  $p = 0,0011$  und  $25 < \text{BMI} < 30$  mit einem p - Wert von  $p < .0001$  erkennbar. In der Gegenüberstellung der Subgruppe BMI  $< 25$  mit der Subgruppe  $25 < \text{BMI} < 30$  konnte mit einem p - Wert von  $p = 0.3576$  keine statistisch signifikante Korrelation festgestellt werden (Tabelle 15).

Tabelle 15: Serum - Visfatin - Konzentration in Abhängigkeit zum BMI aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index)

2013	BMI < 25 (n = 35)	25 < BMI < 30 (n = 189)	BMI > 30 (n = 179)	p - Wert
Visfatin	3,22 ± 2,74 2,49 (0,84 - 15,10)	3,68 ± 4,10 2,75 (0,16 - 40,40)	4,76 ± 4,14 3,81 (0,07 - 41,30)	< .0001

\*Vergleich BMI < 25 vs. 25 < BMI < 30:  $p = 0.3576$ ; Vergleich BMI < 25 vs. BMI > 30:  $p = 0.0011$ ; Vergleich 25 < BMI < 30 vs. BMI > 30:  $p < .0001$

## WHR

Die univariate Korrelationsmatrix wies im Vergleich zwischen WHR und Visfatin einen p - Wert von  $p = 0.0514$ , sowie einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,09712$  auf. Bei der partiellen Korrelationsmatrix (berücksichtigte hier Alter, Geschlecht und BMI) erreichte man ein p - Wert von  $p = 0.0596$  und ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,09429$ . Es lag kein signifikanter Zusammenhang vor (Tabelle 16).

Tabelle 16: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit WHR aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass - Index)

2013	Waist - to - Hip - Ratio Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	0,09712 0.0514
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI)</b>	
Visfatin	0,09429 0.0596

## Triglyceride

Es konnte weder in der univariaten Korrelation ( $p = 0.4906$ ,  $r = -0,01563$ ), noch in der partiellen Korrelationsmatrix ( $p = 0.7544$ ,  $r = -0,03461$ ) eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Tg und Visfatin festgestellt werden (Tabelle 17).

Tabelle 17: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Triglyceriden aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	Triglyceride Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	- 0,01563 0.7544
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI, WHR)</b>	
Visfatin	- 0,03461 0.4906

## HDL

Es konnte eine nur sehr geringe negative Korrelation zwischen den Parametern Visfatin und HDL nachgewiesen werden. Der p - Wert stellte sich sowohl in der univariaten ( $p = 0.0051$ ), als auch in der partiellen Korrelation ( $p = 0.0047$ ) statistisch signifikant dar, bei einem Korrelationskoeffizienten von  $r = -0,13936$  in der univariaten, bzw.  $r = -0,14128$  in der partiellen Korrelation war aber nur ein sehr geringer Zusammenhang nachweisbar (Tabelle 18).

Tabelle 18: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit HDL aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	HDL Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	- 0,13936 <b>0.0051</b>
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI, WHR)</b>	
Visfatin	- 0,14128 <b>0.0047</b>

## Diabetes mellitus

Es konnte mit einem p - Wert von  $p = 0.0043$  in der univariaten, bzw.  $p = 0.0362$  in der partiellen Korrelation (berücksichtigt hier Alter, Geschlecht, BMI und WHR), sowie einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,14188$ , bzw.  $r = 0,10493$  nur eine sehr schwache Korrelation nachgewiesen werden (Tabelle 19).

Tabelle 19: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Diabetes mellitus aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	Diabetes mellitus Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	0,14188 <b>0.0043</b>
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI, WHR)</b>	
Visfatin	0,10493 <b>0.0362</b>

## HOMA

In der univariaten Korrelation konnte eine schwach bis mäßige ( $p < .0001$ ;  $r = 0,24543$ ), in der partiellen Korrelation (berücksichtigte hier Alter, Geschlecht, BMI und WHR) keine, bzw. eine nur noch sehr geringe Korrelation ( $p = 0.0168$ ;  $r = 0,11962$ ) zwischen HOMA und Visfatin festgestellt werden (Tabelle 20).

Tabelle 20: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit HOMA aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (HOMA = Homeostasis model assessment, WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	HOMA Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	0,24543 <b>&lt; .0001</b>
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI, WHR)</b>	
Visfatin	0,11962 <b>0.0168</b>

Unter Berücksichtigung einer Nüchternzeit von 6 Stunden reduzierte sich das Kollektiv auf  $n = 311$ . Der  $p$ -Wert in der univariaten Korrelationsmatrix betrug  $p = 0.0075$  und war statistisch signifikant. Bei einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,24099$  lag eine schwach bis mäßige Korrelation vor. In der partiellen Korrelation (berücksichtigte hier Alter, Geschlecht, BMI, WHR) verschwand der Zusammenhang mit  $p = 0.1956$  und  $r = 0,07407$  (Tabelle 21).

Tabelle 21: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit HOMA mit 6 - stündiger Nüchternzeit aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013 (HOMA = Homeostasis model assessment, WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index)

2013	HOMA
	Korrelationskoeffizient p - Wert
<b>Univariate Korrelationsmatrix</b>	
Visfatin	0,24099 <b>0.0075</b>
<b>Partielle Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI, WHR)</b>	
Visfatin	0,07407 0.1956

Berücksichtigt nur Probanden mit einer Nüchternzeit > 6 →  $n = 311$

## 4 Diskussion

Die NAFLD ist die häufigste Ursache chronischer Lebererkrankungen in der industrialisierten Welt [5, 10, 18, 88, 112]. Durch die stetig zunehmende Fettleibigkeit der Weltbevölkerung steigt nicht nur die Prävalenz, sondern auch das Auftreten schwerer Folgeerkrankungen, wie beispielsweise einer NASH oder einer Leberzirrhose [21, 117]. Die Sonographie bietet eine kostengünstige und nicht invasive Möglichkeit zur Diagnose einer NAFLD [65, 102]. Allerdings wird die diagnostische Beurteilung durch Adipositas und Meteorismus eingeschränkt [65, 108]. Zudem ist sie stark von der Erfahrung des Untersuchers abhängig [66, 101]. Goldstandart zur Diagnose einer NAFLD ist die Leberbiopsie, ein nicht immer suffizienter, invasiver und teurer Eingriff mit gesundheitlichen Risiken [87, 89]. Ziel der heutigen Forschung ist die Detektion alternativer Parameter, mit denen eine nicht invasive und zuverlässige Diagnose der NAFLD ermöglicht wird.

Im Folgenden wird diskutiert, inwieweit Visfatin nach den in dieser Studie beobachteten Ergebnissen diese Rolle übernehmen kann.

### 4.1 Visfatin als Parameter für die Diagnose einer NAFLD

Die prospektiv, randomisierte Follow - Up - Studie EMIL - II ermöglichte erstmals in einem Zeitraum von elf Jahren die Serum - Visfatin - Konzentrationen von Probanden mit und ohne NAFLD zu dokumentieren. Hierbei konnte keine Korrelation zwischen den beiden Parametern nachgewiesen werden. So konnte in der EMIL - I - Studie kein, in der EMIL - II - Studie zunächst ein nur sehr geringer Zusammenhang aufgezeigt werden, der in der partiellen Korrelation seine Signifikanz verlor.

Die hier beschriebenen Untersuchungsergebnisse decken sich mit mehreren Arbeiten, die ebenfalls keine Beziehung zwischen einer NAFLD und den Serum - Visfatin - Konzentrationen herstellen konnten [2, 46, 64, 83, 84, 99, 111]. Inwiefern Visfatin dennoch Einfluss auf die Genese einer NAFLD nimmt, ist nicht abschließend geklärt. Aller et al. konnten beispielsweise trotz mangelnder Korrelation einen Zusammenhang zwischen Visfatin und portaler Inflammation aufzeigen [2]. Als Ursache vermuteten sie eine inflammatorische oder insulinmimetische Rolle des Visfatins, die zu einer direkten Inflammation der Leber

führen könnte [2]. Demgegenüber könnte der Anstieg aber auch ein Epiphänomen, als Resultat der inflammatorischen Gesamtsituation des Patienten darstellen [2]. Kukla et al. hingegen konnten keinen Zusammenhang zwischen portaler Inflammation und Visfatin nachweisen [64]. Stattdessen beschrieben sie eine positive Korrelation des Visfatins mit dem Fibrosegrad der Leber und vermuteten eine antifibrotische Rolle des Adipozytokins [64]. Auch Genc et al. hatten keine Korrelation zwischen Visfatin und einer NAFLD feststellen können, trotzdem stellten sie die Hypothese auf, Visfatin wirke hepatoprotektiv [46]. So wiesen sie eine negative Korrelation zwischen Visfatin und dem proinflammatorischen Zytokin TNF -  $\alpha$  nach [46].

Im Gegensatz zu den hier beobachteten Ergebnissen zeigen mehrere Arbeiten einen Anstieg der Plasma - Visfatin - Konzentration bei Vorliegen einer NAFLD auf [1, 8, 23, 57, 69, 80, 90]. Jarrar et al. beobachteten zudem ein Absinken des zirkulierenden Visfatins bei Genese einer NASH, was auf eine hepatoprotektive Rolle des Adipozytokins hinweisen könnte [57]. Demgegenüber vermuten andere Autoren eine direkte inflammatorische Rolle des Adipozytokins, beispielsweise durch eine positive Korrelation mit IL - 6 oder CRP [8, 90]. Nur wenige Quellen berichteten über eine Abnahme des Visfatin - Spiegels bei einer NAFLD [31, 45].

Im Gruppenvergleich zwischen Visfatin und den sonographisch ermittelten Graden der Leberverfettung konnte in der EMIL - I - Studie 2002 keine Korrelation festgestellt werden. 2013 hingegen wurde ein statistisch signifikanter Anstieg des Visfatins mit Zunahme des Leberverfettungs - Grades nachgewiesen. Signifikant war hierbei der Vergleich zwischen den Probanden ohne NAFLD mit Fettleber Grad II / III - Probanden, sowie Fettleber Grad I mit Fettleber Grad II / III - Probanden. Warum trotz mangelnder Korrelation ein signifikanter Anstieg zu beobachten war, kann nicht eindeutig beantwortet werden. Vermutlich nehmen verschiedene, im Folgenden diskutierte, Konfounder (z.B. BMI, HDL und Diabetes mellitus) Einfluss auf das Ergebnis.

## 4.2 Visfatin im Follow - Up

Zwischen 2002 und 2013 konnte eine signifikante Erhöhung der durchschnittlichen Serum - Visfatin - Konzentration um etwa 1,53 ng/ml beobachtet werden. Der Anstieg des Visfatins war in den Vergleichsgruppen keine NAFLD 2002 und 2013,

keine NAFLD 2002 und NAFLD 2013, sowie NAFLD 2002 und 2013 statistisch signifikant. Bei der Subgruppe keine NAFLD 2002 und NAFLD 2013 konnte ein tendenzieller, aber nicht signifikanter ( $p = 0,0539$ ) Anstieg des Visfatin beobachtet werden. Diese Ergebnisse stützen die oben formulierte These, dass es keine, bzw. nur eine sehr geringe Korrelation zwischen einer Steatosis hepatis und Visfatin gibt. Zudem legen die Ergebnisse die Vermutung nahe, dass andere Parameter Einfluss auf den Anstieg von Visfatin haben könnten.

Zur Bestimmung weiterer Einflussfaktoren wurden verschiedene Parameter, die sich zwischen EMIL - I und EMIL - II verändert hatten untersucht. Signifikante Unterschiede konnten bei den Parametern Alter, BMI, WHR, Hypertonie, Triglyceride, HDL, Diabetes mellitus und HOMA festgestellt werden.

### **4.3 EMIL - II - Studie: Korrelation Visfatin mit verschiedenen Parametern**

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen den oben genannten Parametern mit Visfatin zu detektieren, wurden die Ergebnisse der EMIL - II - Studie zur Korrelation mit Visfatin genutzt.

#### **Visfatin in Abhängigkeit zum Alter**

Bei der Gegenüberstellung von Visfatin und Alter konnte keine Korrelation festgestellt werden. Diese Ergebnisse sind in Einklang zu bringen mit mehreren Studienresultaten, die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Alter und Visfatin erkennen konnten [13, 50].

Demgegenüber konnten Araki et al. in einer pädiatrischen Studie mit Kindern zwischen dem 5ten und 15ten Lebensalter einen positiven Zusammenhang der zwei Parameter feststellen [7]. Diesen Trend beobachteten auch Chen et al., allerdings verlor sich die Korrelation in der multiplen Regression [25].

#### **Visfatin in Abhängigkeit zur Hypertonie**

In den oben gezeigten Studienresultaten konnte keine Korrelation zwischen Visfatin und der Präsenz einer Hypertonie festgestellt werden. Diese Beobachtungen finden sich auch in mehreren anderen Studien [25, 35, 99]. Filipartos et al. hingegen konnten einen positiven Zusammenhang der zwei Parameter aufzeigen [39].



### **Visfatin in Abhängigkeit zu BMI und WHR**

Ob es eine Korrelation zwischen Visfatin und dem BMI gibt, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Ein Großteil der Studien beschreibt einen positiven Zusammenhang der beiden Parameter [8, 13, 23, 30, 49, 51, 52, 71, 80, 82, 95]. Haider et al. stellten beispielsweise bei stark übergewichtigen Patienten mit Magenbandoperation ein Absinken der Visfatin - Konzentrationen während des postoperativen Gewichtsverlustes fest [51]. Eine mögliche Ursache für die positive Korrelation könnte eine erhöhte Migration von Makrophagen ins Fettgewebe sein, die in einer vermehrten Produktion von Visfatin resultiert [30].

Die hier präsentierten Studienergebnisse zeigten in der univariaten Korrelation einen schwach bis mäßigen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern auf. Zudem konnte im Gruppenvergleich zwischen Probanden mit einem BMI < 25, 25 < BMI < 30 und BMI > 30 ein statistisch signifikanter Anstieg der Visfatin - Konzentration in Abhängigkeit zum steigenden BMI beobachtet werden. In der partiellen Korrelation (berücksichtigte Alter, Geschlecht und WHR) hingegen konnte eine nur sehr geringe Korrelation nachgewiesen werden.

Berndt et al. zeigten eine positive Korrelation zwischen der Plasma - Visfatin - Konzentration und dem BMI, sowie dem Körperfettanteil auf [13]. Zudem konnten sie die beiden letztgenannten Parameter in Korrelation mit der viszeralen Visfatin Gen Expression bringen [13]. Da sie keinen Zusammenhang zwischen Visfatin und dem WC, sowie WHR als Parameter für das viszerale Fettgewebe nachweisen konnten, schlussfolgerten sie, dass der Anstieg unabhängig von der Menge des viszeralen Fettgewebes sei [13]. Stattdessen sei er abhängig vom totalen Körperfettanteil [13]. Die hier präsentierten Untersuchungsergebnisse stützen diese Aussagen, da, ähnlich wie in mehreren anderen Studien, kein Zusammenhang zwischen WHR und Visfatin hergestellt werden konnte [52, 63, 118]. Demgegenüber berichteten Chen et al., Visfatin sei sehr wohl abhängig vom WHR, korreliere aber nicht mit dem BMI oder anderen metabolischen Merkmalen [25]. Ihre Aussagen decken sich mit den Ergebnissen von Fukuhara et al., die eine dominante Produktion des Adipozytokins im viszeralen Fettgewebe beobachteten [44]. Zudem konnten mehrere anderen Studien keinen Zusammenhang zwischen dem BMI und Visfatin aufzeigen [1, 25, 35, 36, 45, 63, 93, 118]. Hypothesen, Visfatin sinke bei ansteigendem BMI, hingegen finden sich nur vereinzelt [59].

### **Visfatin in Abhängigkeit zu Triglyceriden und HDL**

In Übereinstimmung mit mehreren anderen Studien konnte keine Korrelation zwischen Visfatin und Triglyceriden nachgewiesen werden [1, 25, 63, 95, 99]. Demgegenüber beobachteten Catalán et al. einen positiven Zusammenhang des Visfatins mit Triglyceriden, sowie LDL [23]. Sie vermuteten hinter dem Anstieg von Visfatin einen kompensatorischen Mechanismus, um eine Triglycerid - Akkumulation zu verhindern. In der hier diskutierten Studie konnte ein nur sehr geringer negativer Zusammenhang zwischen Visfatin und HDL detektiert werden. Kein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern fanden verschieden in der Literatur veröffentlichte Studien [1, 25, 95]. Hassan et al. hingegen detektierte einen negativen Zusammenhang zwischen HDL und Visfatin [53].

### **Visfatin in Abhängigkeit zu Diabetes mellitus und HOMA**

Fukuhara et al. postulierten in einem 2005 erschienen Paper nicht nur die Identifizierung Visfatins, sondern beobachteten einen insulinmimetischen Effekt des Adipozytokins [44]. So führte die Injektion von Visfatin in insulinresistente KKay - Mäuse, ein Modell für Übergewicht und Diabetes mellitus, und mit Streptomycin behandelten, insulindefizienten Mäusen, zu einer deutlichen Reduktion des Blutzuckers. Die Senkung des Glukosespiegels erklärten die Autoren mit einer Aktivierung des Insulinrezeptors durch Bindung des Visfatins an ein spezifisches, nicht mit der Insulinbindungsstelle übereinstimmendes, Epitop. 2007 mussten Fukuhara et al. vor allem wegen fehlender Reliabilität der experimentellen Studien das Paper zurücknehmen. [44]

Trotz dieses Widerrufs unterstützen viele Publikationen einen Zusammenhang zwischen Visfatin und Diabetes mellitus, sowie HOMA [8, 25, 35, 36, 39, 52, 99]. Im Gegensatz hierzu konnten mehrere Studien keinen Zusammenhang zwischen den zwei Parametern mit Visfatin feststellen [59, 63, 95]. Die hier präsentierten Ergebnisse zeigten einen nur sehr geringen Zusammenhang zwischen Diabetes mellitus und Visfatin.

Zwischen Visfatin und HOMA konnte ein schwacher bis mäßiger Zusammenhang beobachtet werden, der in der partiellen Korrelation (berücksichtigt Alter, Geschlecht, BMI und WHR) nur noch sehr gering vorhanden war. Berücksichtigte man eine Nüchternzeit von 6 Stunden reduzierte sich das zu untersuchende

Kollektiv auf  $n = 311$ . In diesem Subkollektiv konnte in der partiellen Korrelationsmatrix kein Zusammenhang mehr dargestellt werden. Mehrere Publikationen fanden keine Korrelation zwischen HOMA und Visfatin [1, 35, 36, 51, 82, 95]. Demgegenüber konnten einige Publikationen einen positiven Zusammenhang nachweisen [8, 25, 39, 99].

### **Zusammenfassung Parameter im Vergleich mit Visfatin**

Zusammenfassend konnte in der hier präsentierten Studie bei drei Parametern ein sehr geringer Zusammenhang mit Visfatin aufgezeigt werden. So wiesen BMI und Diabetes mellitus eine sehr geringe positive, HDL eine sehr geringe negative Korrelation mit Visfatin auf. Des Weiteren konnte ein statistisch signifikanter Anstieg der Serum - Visfatin - Konzentration in Abhängigkeit zum steigenden BMI nachgewiesen werden.

Die hier festgestellten Korrelationen könnten zum einen eine Erklärung für den 2013 festgestellten Anstieg des Visfatins in Abhängigkeit zum Leberverfettungs - Grad darstellen, zum anderen könnte es den statistisch signifikanten Anstieg der durchschnittlichen Visfatin - Konzentration von 2002 auf 2013 erklären. Alle drei Parameter potenzieren die Wahrscheinlichkeit an einer NAFLD zu erkranken und finden sich gehäuft bei Patienten mit einer Fettleber [53, 106]. Zudem verändern sich die Parameter von 2002 auf 2013 statistisch signifikant. Zwar gelang es in der hier präsentierten Studie nur eine sehr geringe Korrelation der Parameter BMI, HDL und Diabetes mellitus mit Visfatin darzustellen, aber die kombinatorische Wirkung aller drei Einflussfaktoren könnte ursächlich für die hier beschriebenen Veränderungen sein. Inwieweit weitere, bislang nicht untersuchte Parameter Einfluss nehmen könnten, ist bislang nicht geklärt.

## 4.4 Schlussfolgerungen

Folgende Schlussfolgerungen sind aus der Studie zu ziehen:

1. Es konnte keine Korrelation zwischen einer NAFLD und Visfatin nachgewiesen werden.
2. Die durchschnittliche Visfatin - Konzentration stieg zwischen EMIL - I und EMIL - II signifikant an. Es muss andere Einflussfaktoren geben, die den Anstieg des Visfatin begründen.
3. Es konnte eine nur sehr geringe positive Korrelation zwischen den Parametern BMI und Diabetes mellitus, bzw. eine sehr geringe negative Korrelation zwischen HDL und Visfatin festgestellt werden. Zudem konnte ein statistisch signifikanter Anstieg des Serum - Visfatin - Spiegels in Abhängigkeit zum steigenden BMI festgestellt werden.
4. Der Anstieg des Visfatins zwischen 2002 und 2013, sowie der statistisch signifikante Anstieg des Visfatins in Abhängigkeit zum Leberverfettungsgrad 2013 könnte auf einen kombinatorischen Einfluss mehrerer Parameter, wie beispielsweise BMI, HDL und Diabetes mellitus zurückzuführen sein.

## 4.5 Stärken und Schwächen der Studie

Vorteil der Studie ist das populationsbasierte Design. Die Rekrutierung einer hohen Anzahl von Teilnehmern (n = 403) im Alter zwischen 18 - 65 Jahren ermöglicht ein repräsentatives Abbild der Allgemeinbevölkerung. Zudem konnte durch die Aufnahme von randomisiert ausgesuchten Probanden die Gefahr eines vorselektierten Kollektivs gesenkt werden.

Limitiert wird die Studie durch die Anwendung der Sonographie zur Befundung einer NAFLD. Der Goldstandard für die Diagnose einer Fettleber ist die Leberbiopsie [86, 89]. Sie dient zudem als einziges beweisendes Verfahren für die Diagnose einer NASH [65]. Die Durchführung einer Leberbiopsie war aus ethischen und technischen Gründen nicht möglich. Auch bei vergleichbaren Studien wurde aufgrund der besseren Durchführbarkeit auf die Sonographie zurückgegriffen [1, 46, 69, 80, 99].

Des Weiteren wurden Konfounder, wie die Einnahme von Medikamenten, nicht berücksichtigt. Diese könnten einen Einfluss auf den Visfatinspiegel und einzelne Laborparameter haben.

Weitere Einschränkungen der Studienergebnisse könnten nicht eingehaltene Nüchternzeiten über 8 Stunden sein. Dies könnte einen Einfluss auf verschiedene Laborwerte, wie beispielsweise Triglyceride haben. Eine Nüchternzeit von 4 Stunden wurde aber eingehalten. Die Angabe einer Nüchternzeit von 8 Stunden wurde nur anamnestisch erhoben.

Abschließend muss erwähnt werden, dass die in der hier beschriebenen Querschnittstudie gefundenen Korrelationen keine Kausalitäten beweisen können. Hierfür müssen Fall - und Longitudinalstudien erfolgen. Der Verlauf der einzelnen Patientengeschichten ist durch die punktuelle Untersuchung 2002 und 2013 nicht beurteilbar.

## **4.6 Ausblick**

Durch eine isolierte Messung des Serum - Visfatin - Spiegels kann nach den hier diskutierten Untersuchungsergebnissen keine Aussage zum Steatosegrad der Leber getroffen werden. Ob Visfatin trotzdem ein Einfluss auf die Genese einer Fettleber hat, muss durch weitere Studien untersucht werden.

## 5 Zusammenfassung

Die nicht - alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) ist die häufigste Ursache chronischer Lebererkrankungen in der industrialisierten Welt. Neben einer nicht - alkoholischen Steatohepatitis (NASH) oder Leberzirrhose kann sich aus der Grunderkrankung auch ein hepatozelluläres Karzinom entwickeln. Goldstandard zur Diagnose einer Fettleber ist die Leberbiopsie, ein nicht immer suffizienter, invasiver und teurer Eingriff mit gesundheitlichen Risiken.

Ziel dieser Studie ist es, eine mögliche Korrelation zwischen Visfatin und einer NAFLD zu detektieren. Gelingt es einen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern nachzuweisen, könnte Visfatin in Zukunft als nicht invasiver Parameter zur Diagnose einer Fettleber herangezogen werden.

Die bevölkerungsbasierte Querschnittsstudie EMIL - I (*Echinococcus multilocularis* in Leutkirch), sowie die prospektive Follow - Up - Studie EMIL - II fanden 2002 und 2013 in Leutkirch, Süddeutschland, statt. Die Grundlage für das Kollektiv bildeten 4000 randomisiert ausgewählte Einwohner Leutkirchs, von denen 2445 an der EMIL - I - Studie teilnahmen. Für die Follow - Up - Studie EMIL - II stellten sich 484 Studienteilnehmer zur Verfügung, von denen 403 in die Studie integriert werden konnten. Die Bestimmung der Serum - Visfatin -Konzentration erfolgte mithilfe eines Sandwich - Enzyme - linked Immunosorbent Assay (ELISA).

Im EMIL - I Kollektiv konnte keine Korrelation zwischen Visfatin und einer NAFLD, sowie zwischen Visfatin und den Graden der Leberverfettung festgestellt werden. Im EMIL - II Kollektiv wurde ein nur sehr geringer Zusammenhang zwischen der NAFLD und Visfatin in der univariaten Korrelation beobachtet. Bei Betrachtung des Korrelationskoeffizienten, sowie unter Berücksichtigung der Parameter Waist - to - Hip - Ratio (WHR), Body - Mass - Index (BMI) und Geschlecht konnte die Korrelation nicht bestätigt werden. In der EMIL - II - Studie wurde gegensätzlich zu den Ergebnissen aus 2002, ein statistisch signifikanter Anstieg des Visfatins in Abhängigkeit zum Grad der Leberverfettung festgestellt. Auffällig war zudem ein statistisch signifikanter Anstieg des Visfatins zwischen den Studien EMIL - I und EMIL - II. Zur Detektion weiterer Einflussfaktoren auf Visfatin wurden die zwischen 2002 und 2013 statistisch signifikant veränderten Parameter Alter, Hypertonie, BMI, WHR, High - density Lipoprotein (HDL), Triglyceride (Tg), Diabetes mellitus und

Homeostasis model assessment (HOMA) auf eine Korrelation mit Visfatin untersucht. Hierbei konnte eine sehr geringe Korrelation zwischen Visfatin und den Parametern BMI, HDL und Diabetes mellitus, sowie ein statistisch signifikanter Anstieg des Visfatins in Abhängigkeit zum steigenden BMI dargestellt werden.

In der hier präsentierten Studie konnte kein Zusammenhang zwischen Visfatin und einer NAFLD festgestellt werden. Der statistisch signifikante Anstieg des Visfatins in Abhängigkeit zur Leberverfettung 2013, sowie der statistisch signifikante Anstieg der durchschnittlichen Serum - Visfatin - Konzentration zwischen EMIL -I und EMIL - II könnte ursächlich auf Störfaktoren, wie beispielsweise BMI, HDL und Diabetes mellitus zurückzuführen sein, die bei Probanden mit einer Steatosis hepatis, sowie im Kollektiv 2013 deutlich stärker vertreten waren.

Bei Betrachtung der ausgesprochen unterschiedlichen Studienergebnisse und der aktuellen Befunderhebungen erscheint es fraglich, ob Visfatin in der Zukunft als nicht invasiver Laborparameter zur Diagnose einer NAFLD herangezogen werden kann.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Akbal E, Koçak E, Taş A, Yüksel E, Köklü S: Visfatin Levels in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J Clin Lab Anal* 26: S. 115–119 (2012)
2. Aller R, De Luis D A, Izaola O, Sagrado M G, Conde R, Velasco M C, Alvarez T, Pacheco D, González J M: Influence of visfatin on histopathological changes of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 54: S. 1772–1777 (2009)
3. Angulo P, Elisabetta B, Bjornsson E S, Charatcharoenwittaya P, Mills P R, Barrera F, Haflidadottir S, Day C P, George J: Simple Noninvasive Systems Predict Long-term Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease PAUL. *Gastroenterology* 145: S. 782–789 (2013)
4. Angulo P, Keach J C, Batts K P, Lindor K D: Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 30: S. 1356–1362 (1999)
5. Angulo P, Lindor K D: Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *J Gastroenterol Hepatol* 17: S. S. 186–190 (2002)
6. Anstee Q M, Seth D, Day C P: Genetic Factors That Affect Risk of Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 150: S. 1728–1744 (2016)
7. Araki S, Dobashi K, Kubo K, Kawagoe R, Yamamoto Y, Kawada Y, Asayama K, Shirahata A: Plasma visfatin concentration as a surrogate marker for visceral fat accumulation in obese children. *Obesity* 16: S. 384–388 (2008)
8. Auguet T, Terra X, Porrás J A, Orellana-Gavald J M, Martínez S, Aguilar C, Lucas A, Pellitero S, Hernandez M, Del Castillo D, Richart C: Plasma visfatin levels and gene expression in morbidly obese women with associated fatty liver disease. *Clin Biochem* 46: S. 202–208 (2013)
9. Bae S K, Kim S R, Kim J G, Kim J Y, Koo T H, Jang H O, Yun I, Yoo M A, Bae M K: Hypoxic induction of human visfatin gene is directly mediated by hypoxia-inducible factor-1. *FEBS Lett* 580: S. 4105–4113 (2006)



10. Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Castiglione A, Crocè L S, Tiribelli C, Bellentani S: Incidence and natural course of fatty liver in the general population: The dionysos study. *Hepatology* 46: S. 1387–1391 (2007)
11. Van Beijnum J R, Moerkerk P T M, Gerbers A J, De Brune A P, Arends J W, Hoogenboom H R, Huffton S E: Target validation for genomics using peptide-specific phage antibodies: A study of five gene products overexpressed in colorectal cancer. *Int J Cancer* 101: S. 118–127 (2002)
12. Benedict M, Zhang X: Non-alcoholic fatty liver disease: An expanded review. *World J Hepatol* 9: S. 715–732 (2017)
13. Berndt J, Klötting N, Kralisch S, Kovacs P, Fasshauer M, Schön M R, Stumvoll M, Blüher M: Plasma visfatin concentrations and fat depot-specific mRNA expression in humans. *Diabetes* 54: S. 2911–2916 (2005)
14. Bertot L C, Adams L A: The natural course of non-alcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci* 17: (2016)
15. Blüher M: Clinical relevance of adipokines. *TL - 36. Diabetes Metab J* 36 VN-r: S. 317–327 (2012)
16. de Boer J F, Bahr M J, Böker K H W, Manns M P, Tietge U J F: Plasma levels of PBEF/Nampt/visfatin are decreased in patients with liver cirrhosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 296: S. G196-201 (2009)
17. Brown M S, Goldstein J L: Selective versus Total Insulin Resistance: A Pathogenic Paradox. *Cell Metab* 7: S. 95–96 (2008)
18. Browning J D, Szczepaniak L S, Dobbins R, Nuremberg P, Horton J D, Cohen J C, Grundy S M, Hobbs H H: Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: Impact of ethnicity. *Hepatology* 40: S. 1387–1395 (2004)
19. Brunt E M, Janney C G, Di Bisceglie A M, Neuschwander-Tetri B A, Bacon B R: Nonalcoholic steatohepatitis: A proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 94: S. 2467–2474 (1999)
20. Brunt E M, Tiniakos D G: Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 16: S. 5286–5296 (2010)

21. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis E A: The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism* 65: S. 1038–1048 (2016)
22. Byrne C D, Targher G: NAFLD: A multisystem disease. *J Hepatol* 62: S. S47–S64 (2015)
23. Catalán V, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Ramírez B, Silva C, Rotellar F, Cienfuegos J A, Salvador J, Frühbeck G: Association of increased Visfatin/PBEF/NAMPT circulating concentrations and gene expression levels in peripheral blood cells with lipid metabolism and fatty liver in human morbid obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 21: S. 245–253 (2011)
24. Chalasani N, Guo X, Loomba R, Goodarzi M O, Haritunians T, Kwon S, Cui J, Taylor K D, Wilson L, Cummings O W, Chen Y D I, Rotter J I: Genome-wide association study identifies variants associated with histologic features of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 139: S. 1567–1576.e6 (2010)
25. Chen M-P, Chung F-M, Chang D-M, Tsai J C-R, Huang H-F, Shin S-J, Lee Y-J: Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 91: S. 295–299 (2006)
26. Chitturi S, Farrell G C: Etiopathogenesis of Nonalcoholic Steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 21: S. 27–41 (2001)
27. Cohen J C, Horton J D, Hobbs H H: Human Fatty Liver Disease: Old Questions and New Insights. *Science* (80- ) 332: S. 1519–1523 (2011)
28. Cornier M A, Dabelea D, Hernandez T L, Lindstrom R C, Steig A J, Stob N R, Van Pelt R E, Wang H, Eckel R H: The metabolic syndrome. *Endocr Rev* 29: S. 777–822 (2008)
29. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko V P, Arnold C, Rashid A, Diehl A M: Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *Jama* 282: S. 1659–1664 (1999)
30. Curat C A, Wegner V, Sengenès C, Miranville A, Tonus C, Busse R, Bouloumié A: Macrophages in human visceral adipose tissue: Increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 49:

- S. 744–747 (2006)
31. Dahl T B, Haukeland J W, Yndestad A, Ranheim T, Gladhaug I P, Damås J K, Haaland T, Løberg E M, Arntsen B, Birkeland K, Bjøro K, Ulven S M, Konopski Z, Nebb H I, Aukrust P, Halvorsen B: Intracellular nicotinamide phosphoribosyltransferase protects against hepatocyte apoptosis and is down-regulated in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab* 95: S. 3039–3047 (2010)
  32. Dahl T B, Holm S, Aukrust P, Halvorsen B: Visfatin/NAMPT: A Multifaceted Molecule with Diverse Roles in Physiology and Pathophysiology. *Annu Rev Nutr* 32: S. 229–243 (2012)
  33. Day C P, James O F: Steatohepatitis: a tale of two ``hits''?. *Gastroenterology* 114: S. 842–845 (1998)
  34. Demir M, Lang S, Steffen H-M: Nonalcoholic fatty liver disease - current status and future directions. *J Dig Dis* 16: S. 541–557 (2015)
  35. Dogru T, Sonmez A, Tasci I, Bozoglu E, Yilmaz M I, Genc H, Erdem G, Gok M, Bingol N, Kilic S, Ozgurtas T, Bingol S: Plasma visfatin levels in patients with newly diagnosed and untreated type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Diabetes Res Clin Pract* 76: S. 24–29 (2007)
  36. Esteghamati A, Alamdari A, Zandieh A, Elahi S, Khalilzadeh O, Nakhjavani M, Meysamie A: Serum visfatin is associated with type 2 diabetes mellitus independent of insulin resistance and obesity. *Diabetes Res Clin Pract* 91: S. 154–158 (2011)
  37. Fasshauer M, Blüher M: Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci* 36: S. 461–470 (2015)
  38. Feske S, Giltman J, Dolmetsch R, Staudt L M, Rao A: Gene Regulation Mediated by Calcium Signals in Gene regulation mediated by calcium signals in T lymphocytes. 2: S. 316–326 (2001)
  39. Filippatos T D, Derdemezis C S, Gazi I F, Lagos K, Kiortsis D N, Tselepis A D, Elisaf M S: Increased plasma visfatin levels in subjects with the metabolic syndrome [3]. *Eur J Clin Invest* 38: S. 71–72 (2008)
  40. Flegal K M, Kruszon-Moran D, Carroll M D, Fryar C D, Ogden C L: Trends in

- obesity among adults in the United States, 2005 to 2014. *JAMA - J Am Med Assoc* 315: S. 2284–2291 (2016)
41. Fotbolcu H, Zorlu E: Nonalcoholic fatty liver disease as a multi-systemic disease. *World J Gastroenterol* 22: S. 4079–4090 (2016)
  42. de Fougerolles A R, Chi-Rosso G, Bajardi A, Gotwals P, Green C D, Kotliansky V E: Global Expression Analysis of Extracellular Matrix–Integrin Interactions in Monocytes. *Immunity* 13: S. 749–758 (2000)
  43. Fujiki K, Shin D H, Nakao M, Yano T: Molecular cloning and expression analysis of the putative carp (*Cyprinus carpio*) pre-B cell enhancing factor. *Fish Shellfish Immunol* 10: S. 383–385 (2000)
  44. Fukuhara A: Visfatin: A Protein Secreted by Visceral Fat That Mimics the Effects of Insulin. *Science* (80- ) 307: S. 426–430 (2005)
  45. Gaddipati R, Mitnala S, Padaki N, Mukherjee R M, Sekaran A, Jayaraj-Mansard M, Rabella P, Rao-Guduru V, Reddy-Duvvuru N: Visceral adipose tissue visfatin in nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 9: S. 266–270 (2010)
  46. Genc H, Dogru T, Kara M, Tapan S, Ercin C N, Acikel C, Karslioglu Y, Bagci S: Association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Eur J Dermatology* 12: S. 548–555 (2013)
  47. Goessling W, Massaro J M, Vasan R S, D'Agostino R B, Ellison R C, Fox C S: Aminotransferase Levels and 20-Year Risk of Metabolic Syndrome, Diabetes, and Cardiovascular Disease. *Gastroenterology* 135: S. 1935–1944 (2008)
  48. Grant R W, Dixit V D: Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity* 23: S. 512–518 (2015)
  49. Haider D G, Schaller G, Kapiotis S, Maier C, Luger A, Wolzt M: The release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin. *Diabetologia* 49: S. 1909–1914 (2006)
  50. Haider D G, Holzer G, Schaller G, Weghuber D, Widhalm K, Wagner O, Kapiotis S, Wolzt M: The adipokine visfatin is markedly elevated in obese children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 43: S. 548–549 (2006)

51. Haider D G, Schindler K, Schaller G, Prager G, Wolzt M, Ludvik B: Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab* 91: S. 1578–1581 (2006)
52. Hammarstedt A, Pihlajamäki J, Sopasakis V R, Gogg S, Jansson P A, Laakso M, Smith U: Visfatin is an adipokine, but it is not regulated by thiazolidinediones. *J Clin Endocrinol Metab* 91: S. 1181–1184 (2006)
53. Hassan A B, Khni A N: Assessment of Visfatin and Risk Factors in Relation with Diabetic Mellitus Type II. *Life Sci J* 11: S. 608–615 (2014)
54. Hassan K, Bhalla V, El Regal M E, Hesham A-Kader H: Nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of a growing epidemic. *World J Gastroenterol* 20: S. 12082–12101 (2014)
55. Hufton S E, Moerkerk P T, Brandwijk R, de Bruine A P, Arends J W, Hoogenboom H R: A profile of differentially expressed genes in primary colorectal cancer using suppression subtractive hybridization. *Fed Eur Biochem Soc Lett* 463: S. 77–82 (1999)
56. Hug C: Medicine: Visfatin: A New Adipokine. *Science (80- )* 307: S. 366–367 (2005)
57. Jarrar M H, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, Fang Y, Elariny H, Goodman Z, Chandhoke V, Younossi Z M: Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 27: S. 412–421 (2007)
58. Jia S H, Li Y, Parodo J, Kapus A, Fan L, Rotstein O D, Marshall J C: Pre – B cell colony – enhancing factor inhibits neutrophil apoptosis in experimental inflammation and clinical sepsis. *J Clin Invest* 113: S. 1318–1327 (2004)
59. Jian W X, Luo T H, Gu Y Y, Zhang H L, Zheng S, Dai M, Han J F, Zhao Y, Li G, Luo M: The visfatin gene is associated with glucose and lipid metabolism in a Chinese population. *Diabet Med* 23: S. 967–973 (2006)
60. Johannsen K, Flechtner-Mors M, Kratzer W, Koenig W, Boehm B O, Schmidberger J, Group for the E-S: Association Between Visfatin and Hepatic Steatosis in the General Population During Long-Term Follow-Up. *Horm Metab Res* (2019)

61. Kendal-Wright C E, Hubbard D, Bryant-Greenwood G D: Chronic Stretching of Amniotic Epithelial Cells Increases Pre-B Cell Colony-Enhancing Factor (PBEF/Visfatin) Expression and Protects Them from Apoptosis. *Placenta* 29: S. 255–265 (2008)
62. Koczan D, Guthke R, Thiesen H, Ibrahim S, Kundt G: Gene expression profiling of peripheral blood mononuclear leukocytes from psoriasis patients identifies new immune regulatory molecules. *Eur J Dermatol* 15: S. 251–57 (2005)
63. Körner A, Garten A, Blüher M, Tauscher R, Kratzsch J, Kiess W: Molecular characteristics of serum visfatin and differential detection by immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 92: S. 4783–4791 (2007)
64. Kukla M, Ciupinska-Kajor M, Kajor M, Wylezol M, Żwirska-Korczała K, Hartleb M, Berdowska A, Mazur W: Liver Visfatin Expression in Morbidly Obese Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease Undergoing Bariatric Surgery. S. 147–153 (2010)
65. Lee S S, Park S H: Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 20: S. 7392–7402 (2014)
66. Lee S S, Park S H, Kim H J, Kim S Y, Kim M Y, Kim D Y, Suh D J, Kim K M, Bae M H, Lee J Y, Lee S G, Yu E S: Non-invasive assessment of hepatic steatosis: Prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatol* 52: S. 579–585 (2010)
67. Lehr S, Hartwig S, Lamers D, Famulla S, Müller S, Hanisch F-G, Cuvelier C, Ruige J, Eckardt K, Ouwens D M, Sell H, Eckel J: Identification and Validation of Novel Adipokines Released from Primary Human Adipocytes. *Mol Cell Proteomics* 11: S. 1–13 (2012)
68. Lewis J R, Mohanty S R: Nonalcoholic fatty liver disease: A review and update. *Dig Dis Sci* 55: S. 560–578 (2010)
69. Li C, Li J, Chen Y, Zhong X, Kang M: Effect of curcumin on visfatin and zinc- $\alpha$ 2-glycoprotein in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease. *Acta Cirúrgica Bras* 31: S. 706–713 (2016)
70. Li L, Yang G, Li Q, Tang Y, Yang M, Yang H, Li K: Changes and relations of

- circulating visfatin, apelin, and resistin levels in normal, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetic subjects. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 114: S. 544–548 (2006)
71. Li Y, Zhang Y, Dorweiler B, Cui D, Wang T, Woo C W, Brunkan C S, Wolberger C, Imai S I, Tabas I: Extracellular nampt promotes macrophage survival via a nonenzymatic interleukin-6/STAT3 signaling mechanism. *J Biol Chem* 283: S. 34833–34843 (2008)
72. Luk T, Malam Z, Marshall J C: Pre-B cell colony-enhancing factor (PBEF)/visfatin: a novel mediator of innate immunity. *J Leukoc Biol* 83: S. 804–816 (2008)
73. Martin P R, Martin P R, Shea R J, Shea R J, Mulks M H, Mulks M H: Identification of a Plasmid-Encoded Gene from. *Society* 183: S. 1168–1174 (2001)
74. McGlothlin J R, Gao L, Lavoie T, Simon B A, Easley R B, Ma S F, Rumala B B, Garcia J G N, Ye S Q: Molecular cloning and characterization of canine Pre-B-Cell colony-enhancing factor. *Biochem Genet* 43: S. 127–141 (2005)
75. Mensink G B M, Schienkiewitz A, Haftenberger M, Lampert T, Ziese T, Scheidt-Nave C: Übergewicht und Adipositas in Deutschland: Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 56: S. 786–794 (2013)
76. Moschen A R, Kaser A, Enrich B, Mosheimer B, Theurl M, Niederegger H, Tilg H: Visfatin, an Adipocytokine with Proinflammatory and Immunomodulating Properties. *J Immunol* 178: S. 1748–1758 (2007)
77. Muller W E, Perovic S, Wilkesman J, Kruse M, Muller I M, Batel R: Increased gene expression of a cytokine-related molecule and profilin after activation of *Suberites domuncula* cells with xenogeneic sponge molecule(s). *DNA Cell Biol* 18: S. 885–893 (1999)
78. Nowell M A, Richards P J, Fielding C A, Ognjanovic S, Topley N, Williams A S, Bryant-Greenwood G, Jones S A: Regulation of pre-B cell colony-enhancing factor by STAT-3-dependent interleukin-6 trans-signaling: Implications in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:

- S. 2084–2095 (2006)
79. Ognjanovic S, Bao S, Yamamoto S Y, Garibay-Tupas J, Samal B, Bryant-Greenwood G D: Genomic organization of the gene coding for human pre-B-cell colony enhancing factor and expression in human fetal membranes. *J Mol Endocrinol* 26: S. 107–117 (2001)
  80. Ooi S Q, Chan R M E, Poh L K S, Loke K Y, Heng C K, Chan Y H, Gan S U, Lee K O, Lee Y S: Visfatin and its genetic variants are associated with obesity-related morbidities and cardiometabolic risk in severely obese children. *Pediatr Obes* 9: S. 81–91 (2014)
  81. Otero M, Lago R, Gomez R, Lago F, Dieguez C, Gomez-Reino J J, Gualillo O: Changes in plasma levels of fat-derived hormones adiponectin, leptin, resistin and visfatin in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 65: S. 1198–1201 (2006)
  82. Pagano C, Pilon C, Olivieri M, Mason P, Fabris R, Serra R, Milan G, Rossato M, Federspil G, Vettor R: Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 91: S. 3165–3170 (2006)
  83. Polyzos S A, Kountouras J, Mantzoros C S: Adipokines in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 65: S. 1062–1079 (2016)
  84. Polyzos S A, Kountouras J, Papatheodorou A, Katsiki E, Patsiaoura K, Zafeiriadou E, Zavos C, Papadopoulou E, Terpos E: Adipocytokines and cytokeratin-18 in patients with nonalcoholic fatty liver disease : Introduction of CHA index. *Ann Hepatol* 12: S. 749–757 (2013)
  85. Rashid A, Wu T C, Huang C C, Chen C H, Lin H Z, Yang S Q, Lee F Y, Diehl A M: Mitochondrial proteins that regulate apoptosis and necrosis are induced in mouse fatty liver. *Hepatology* 29: S. 1131–1138 (1999)
  86. Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, Charlotte F, Cavallaro L, Sayegh-Tainturier M H, Giral P, Grimaldi A, Opolon P, Poynard T: Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 35: S. 1485–1493 (2002)
  87. Ratziu V, Charlotte F, Heurtier A, Gombert S, Giral P, Bruckert E, Grimaldi A,



- Capron F, Poynard T: Sampling variability of liver biopsy in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 128: S. 1898–1906 (2005)
88. Rector R S, Thyfault J P, Wei Y, Ibdah J a: Non-alcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: an update. *World J Gastroenterol* 14: S. 185–192 (2008)
89. Rinella M E: Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Jama* 313: S. 2263–2273 (2015)
90. Romanowska A, Lebensztejn D: Evaluation of serum visfatin concentrations in children with nonalcoholic fatty liver disease. *Pol Merkur Lek* 28: S. 459–61 (2010)
91. Rongvaux A, She R J, Mulks M H, Gigot D, Urbain J, Leo O, Andris F: Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAF biosynthesis. *Eur J Immunol* 32: S. 3225–3234 (2002)
92. Rosa L, Simona O, Douglas T, Davidson Brian R, Selvan G K, Emmanuel T: Pharmacological interventions for non-alcohol related fatty liver disease (NAFLD). *Cochrane Database Syst Rev* (2017)
93. Ruiz J R, Lasa A, Simon E, Larrarte E, Labayen I: Lower plasma NAMPT/visfatin levels are associated with impaired hepatic mitochondrial function in non-diabetic obese women: A potential link between obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 22: S. e1–e2 (2012)
94. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I: Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 14: S. 1431–1437 (1994)
95. Sandeep S, Velmurugan K, Deepa R, Mohan V: Serum visfatin in relation to visceral fat, obesity, and type 2 diabetes mellitus in Asian Indians. *Metabolism* 56: S. 565–570 (2007)
96. Schwenzer N F, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F: Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound,

- computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol* 51: S. 433–445 (2009)
97. Segal, L M; Martin, A; Rayburn J: The state of obesity: September 2016. S. 1–107 (2016)
98. Shaffer A L, Rosenwald A, Hurt E M, Giltnane J M, Lam L T, Pickeral O K, Staudt L M: Signatures of the Immune Response Review. 15: S. 375–385 (2001)
99. Shaker O, El-Shehaby A, Zakaria A, Mostafa N, Talaat S, Katsiki N, Mikhailidis D P: Plasma visfatin and retinol binding protein-4 levels in patients with type 2 diabetes mellitus and their relationship to adiposity and fatty liver. *Clin Biochem* 44: S. 1457–1463 (2011)
100. Smith B W, Adams L A: Non-alcoholic fatty liver disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 48: S. 97–113 (2011)
101. Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L: Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *Am J Roentgenol* 189: S. 320–323 (2007)
102. Sumida Y, Nakajima A, Itoh Y: Limitations of liver biopsy and non-invasive diagnostic tests for the diagnosis of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 20: S. 475–485 (2014)
103. Tang H, Cheung W M, Ip F C, Ip N Y: Identification and characterization of differentially expressed genes in denervated muscle. *Mol Cell Neurosci* 16: S. 127–140 (2000)
104. Tchernof A, Despres J-P: Pathophysiology of Human Visceral Obesity: An Update. *Physiol Rev* 93: S. 359–404 (2013)
105. Teague T K, Hildeman D, Kiedl R M, Mitchell T, Rees W, Schaefer B C, Bender J, Kappler J, Marrack P: Activation changes the spectrum but not the diversity of genes expressed by T cells. *Proc Natl Acad Sci* 96: S. 12691–12696 (1999)
106. Tilg H, Moschen A R, Roden M: NAFLD and diabetes mellitus. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14: S. 32–42 (2017)

107. Tiniakos D G, Vos M B, Brunt E M: Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathology and Pathogenesis. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 5: S. 145–171 (2010)
108. Townsend S A, Newsome P N: Non-alcoholic fatty liver disease in 2016. *Br Med Bull* 119: S. 143–156 (2016)
109. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Bodles A M, Phanavanh B, Lee M J, Starks T, Kern L M, Spencer H J, McGehee R E, Fried S K, Kern P A: Human visfatin expression: Relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab* 92: S. 666–672 (2007)
110. Vernon G, Baranova A, Younossi Z M: Systematic review: The epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 34: S. 274–285 (2011)
111. Waluga M, Kukla M, Zorniak M, Kochel-Jankowska A, Kajor M, Krzeminski T, Kotulski R: Visfatin and TGF-Beta1 in primary biliary cirrhosis and two other common liver diseases. *Folia Med Cracov* 55: S. 59–70 (2015)
112. Weston C J, Shepherd E L, Claridge L C, Rantakari P, Curbishley S M, Tomlinson J W, Hubscher S G, Reynolds G M, Aalto K, Anstee Q M, Jalkanen S, Salmi M, Smith D J, Day C P, Adams D H: Vascular adhesion protein-1 promotes liver inflammation and drives hepatic fibrosis. *J Clin Invest* 125: S. 501–520 (2015)
113. Yang S Q, Lin H Z, Lane M D, Clemens M, Diehl A M: Obesity increases sensitivity to endotoxin liver injury: Implications for the pathogenesis of steatohepatitis. *Proc Natl Acad Sci* 94: S. 2557–2562 (1997)
114. Ye S Q, Simon B A, Maloney J P, Zambelli-Weiner A, Gao L, Grant A, Easley R B, McVerry B J, Tudor R M, Standiford T, Brower R G, Barnes K C, Garcia J G N: Pre-B-cell colony-enhancing factor as a potential novel biomarker in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 171: S. 361–370 (2005)
115. Yki-Järvinen H: Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2: S. 901–910 (2014)
116. Younossi Z M, Henry L: Economic and Quality-of-Life Implications of Non-

- 
- Alcoholic Fatty Liver Disease. *Pharmacoeconomics* 33: S. 1245–1253 (2015)
117. Younossi Z M, Koenig A B, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M: Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 64: S. 73–84 (2016)
118. Zahorska-Markiewicz B, Olszanecka-Glinianowicz M, Janowska J, Kocęlak P, Semik-Grabarczyk E, Holecki M, Dabrowski P, Skorupa A: Serum concentration of visfatin in obese women. *Metabolism* 56: S. 1131–1134 (2007)

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Studienkollektiv der <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) Studie 2002 der Universität Ulm (NAFLD = Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung, BMI = Body - Mass - Index) .....	11
Tabelle 2:	Studienkollektiv der <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) Studie 2013 der Universität Ulm (NAFLD = Nicht - alkoholische Fettlebererkrankung, BMI = Body - Mass - Index) .....	12
Tabelle 3:	Comparison of subject characteristics in 2002 and 2013 (SD = standard deviation; min = minimum; max = maximum; BMI = body mass index; HOMA = homeostasis model assessment) Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60].....	23
Tabelle 4:	Partial correlation (taking body mass index, Waist-to-Hip Ratio and sex into account) of the serum visfatin concentration with sonographic presence of hepatic steatosis in 2002 Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60].....	24
Tabelle 5:	Serum visfatin concentrations in relation to the degree of steatosis in 2002 Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60].....	25
Tabelle 6:	Partial correlation (taking body mass index, Waist-to-Hip Ratio and sex into account) of the serum visfatin concentration with sonographic presence of hepatic steatosis in 2013 Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60].....	25
Tabelle 7:	Serum visfatin concentrations in relation to the degree of steatosis in 2013 Diese Tabelle wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60].....	26

Tabelle 8:	Serum - Visfatin - Konzentration im Follow - Up aus den Studien der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2002 und 2013 (SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum) .....	28
Tabelle 9:	Vergleich Probandendaten bei Patienten mit und ohne NAFLD aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (SD = Standardabweichung, Min = Minimum, Max = Maximum, BMI = Body - Mass -Index, HDL = High - density Lipoprotein, HOMA = Homeostasis model assessment).....	30
Tabelle 10:	Univariate Korrelation Steatosis hepatis mit verschiedenen Parametern aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index, HDL = High - density Lipoprotein, HOMA = Homeostasis model assessment).....	31
Tabelle 11:	Partielle Korrelation Steatosis hepatis mit verschiedenen Parametern aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (HDL = High - density Lipoprotein, HOMA = Homeostasis model assessment) .....	32
Tabelle 12:	Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Alter aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index).....	33
Tabelle 13:	Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Hypertonie aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index) .....	33
Tabelle 14:	Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit BMI aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index).....	34
Tabelle 15:	Serum - Visfatin - Konzentration in Abhängigkeit zum BMI aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index) .....	35

---

Tabelle 16: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit WHR aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (BMI = Body - Mass -Index) .....	35
Tabelle 17: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Triglyceriden aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index).....	36
Tabelle 18: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit HDL aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index).....	36
Tabelle 19: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit Diabetes mellitus aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index).....	37
Tabelle 20: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit HOMA aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (HOMA = Homeostasis model assessment, WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index) .....	37
Tabelle 21: Korrelation Serum - Visfatin - Konzentration mit HOMA mit 6 - stündiger Nüchternzeit aus der Studie der Universität Ulm zu <i>Echinococcus multilocularis</i> in Leutkirch (EMIL) 2013 (HOMA = Homeostasis model assessment, WHR = Waist - to - Hip - Ratio, BMI = Body - Mass -Index) .....	38

## Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Follow-up study population from the Ulm University studies on *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2002 and in 2013 (w = women, m = men) Diese Graphik wurde freundlicherweise zur Verfügung gestellt vom Georg Thieme Verlag KG [60] ..... 13
- Abbildung 2: Verlaufsbeobachtung der Präsenz einer NAFLD bei Probanden aus den Studien der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2002 und 2013..... 21
- Abbildung 3: Boxplot: Serum - Visfatin - Konzentration in Abhängigkeit zum Steatose Grad aus der Studie der Universität Ulm zu *Echinococcus multilocularis* in Leutkirch (EMIL) 2013..... 26



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die mich bei meiner Dissertation unterstützt haben.

Ein herzlicher Dank geht an meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Kratzer für die Überlassung des Themas, die gute Betreuung und die stete Erreichbarkeit.

Mein Dank richtet sich auch an Sümeyra Tasdemir und Julian Schmidberger, die mich bei der statistischen Auswertung bestens unterstützen und jederzeit für Rat und Tat zur Verfügung standen.

Ein letzter Dank geht an meine Familie, besonders meinem Vater, die mich in meiner gesamten Studienzeit und auf den Weg zur Fertigstellung der Doktorarbeit immer unterstützt und motiviert haben.

## **Lebenslauf**

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.