

Aus der Klinik für Innere Medizin II  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert

**Untersuchungen zum gastrointestinalen Hormon  
Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19)  
bei übergewichtigen und adipösen Patienten mit  
nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD)**

*Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors  
der Theoretischen Medizin  
der Medizinischen Fakultät*

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2016

vorgelegt von: Dana Friedrich  
geb. am: 05.07.1978 in Lübben

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>1</b>
<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>4</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>5</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>6</b>
<b>1 Zusammenfassung</b>	<b>9</b>
<b>2 Einleitung</b>	<b>13</b>
<b>2.1 Nichtalkoholische Fettlebererkrankungen</b>	<b>13</b>
2.1.1 Definition und Einteilung	13
2.1.2 Prävalenz der NAFLD	15
2.1.3 Pathogenese der NAFLD	17
2.1.4 Risikofaktoren / Ursachen der NAFLD	19
2.1.5 Diagnose der NAFLD	19
<b>2.2 Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19)</b>	<b>21</b>
2.2.1 FGF-Familie und Einordnung von FGF-19	21
2.2.2 FGF-19 - Evolutionsgeschichte	22
2.2.3 Funktionen von FGF-19 - Signalwege	23
2.2.4 FGF-19 und metabolische Funktionen im Tiermodell	27
2.2.5 FGF-19 und metabolische Wirkungen im Menschen	28
2.2.5.1 Regulation des Gallensäurestoffwechsels	28
2.2.5.2 FGF-19 bei Lebererkrankungen	32
2.2.5.3 FGF-19 und Ernährungszustand	33
2.2.5.4 FGF-19 und Darmfunktionsstörungen	34
2.2.6 FGF-19 und diagnostische Relevanz beim Menschen	35
2.2.7 FGF-19 und therapeutisches Potenzial	35
<b>3 Fragestellungen</b>	<b>37</b>
<b>4 Probanden und Methoden</b>	<b>38</b>
<b>4.1 Genehmigung der Studie</b>	<b>38</b>
<b>4.2 Probandenauswahl</b>	<b>38</b>
<b>4.3 Ein- und Ausschlusskriterien</b>	<b>38</b>
<b>4.4 Methoden</b>	<b>39</b>
4.4.1 Leberdiagnostik	40
4.4.1.1 Ultraschall der Leber	40

4.4.1.2	Transiente Elastographie (FibroScan®)	40
4.4.2	Ernährungsstatus	41
4.4.2.1	Ernährungsprotokoll	41
4.4.2.2	Body Mass Index (BMI)	42
4.4.2.3	Messung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA)	42
4.4.3	Oraler Fetttoleranztest (oFTT)	44
4.4.4	Blutentnahmen und Blutverarbeitung	45
4.4.5	Analyse metabolischer Basisparameter im Serum	45
4.4.6	Bestimmung der FGF-19-Serumkonzentrationen	46
4.4.7	Statistische Auswertungen	47
<b>5</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Charakterisierung der Studiengruppen</b>	<b>48</b>
<b>5.2</b>	<b>Leberdiagnostik</b>	<b>49</b>
<b>5.3</b>	<b>Ernährungsstatus</b>	<b>51</b>
5.3.1	Body Mass Index (BMI)	51
5.3.2	Energie- und Nährstoffaufnahme	52
5.3.3	Körperzusammensetzung	54
<b>5.4</b>	<b>FGF-19-Serumkonzentrationen</b>	<b>56</b>
5.4.1	Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen	56
5.4.2	FGF-19-Serumkonzentrationen nach oFTT	56
<b>5.5</b>	<b>Metabolische Basisparameter</b>	<b>60</b>
<b>5.6</b>	<b>Triglyzeridserumkonzentrationen</b>	<b>62</b>
5.6.1	Nüchtern-Triglyzeridserumkonzentrationen	62
5.6.2	Triglyzeridserumkonzentrationen nach oFTT	62
<b>5.7</b>	<b>Korrelationen zwischen FGF-19 und verschiedenen Parametern</b>	<b>66</b>
5.7.1	Einfluss des Geschlechts auf FGF-19	66
5.7.2	Einfluss des Alters auf FGF-19	67
5.7.3	Korrelationen zwischen FGF-19 und Ernährungsstatus	68
5.7.3.1	Einfluss des BMI auf FGF-19	68
5.7.3.2	Einfluss der Körperzusammensetzung auf FGF-19	68
5.7.3.3	Einfluss der Ernährung auf FGF-19	70
5.7.4	Korrelationen zwischen FGF-19 und metabolischen Basisparametern	70
5.7.5	Korrelationen zwischen FGF-19 und Triglyzeridserumkonzentrationen	71

<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>72</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>81</b>
<b>8</b>	<b>Eigene Arbeiten zum Thema NAFLD und FGF-19</b>	<b>95</b>
	<b>Danksagung</b>	<b>98</b>

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen _____	42
Tab. 2:	Zusammensetzung Calogen® _____	45
Tab. 3:	Geschlechts- und Altersverteilungen der Probanden _____	48
Tab. 4:	Prävalenz von Begleiterkrankungen bei Übergewichtigen und Adipösen _____	49
Tab. 5:	NAFLD-Prävalenz nach Gradeinteilung und Diagnostikmethode bei Übergewichtigen _____	49
Tab. 6:	NAFLD-Prävalenz nach Gradeinteilung und Diagnostikmethode bei Adipösen _____	50
Tab. 7:	BMI-Werte der gesunden Kontrollen _____	51
Tab. 8:	BMI-Werte der übergewichtigen NAFLD-Patienten _____	51
Tab. 9:	BMI-Werte der adipösen NAFLD-Patienten _____	51
Tab. 10:	Vergleich der Energie- und Nährstoffaufnahme zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen _____	53
Tab. 11:	Vergleich der Körperzusammensetzung zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen _____	55
Tab. 12:	Vergleich der FGF-19-Serumkonzentrationen zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen _____	58
Tab. 13:	Vergleich der metabolischen Basisparameter zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen _____	61
Tab. 14:	Referenzbereiche der metabolischen Basisparameter _____	61
Tab. 15:	Vergleich der Triglyzeridserumkonzentrationen zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen _____	63
Tab. 16:	FGF-19-Serumkonzentrationen von Männern und Frauen _____	66

## Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Krankheitsspektrum der NAFLD	14
Abb. 2:	Regionale Unterschiede in der Prävalenz der Adipositas (BMI $\geq$ 30 kg/m <sup>2</sup> ) in Europa	16
Abb. 3:	Pathogenese der NAFLD/NASH	18
Abb. 4:	FGF-Gen-Familie beim Menschen	22
Abb. 5:	FGF-19-Expression und -sekretion	25
Abb. 6:	Mechanismen der FGF-19-Signalübertragung und hepatische Antwort	25
Abb. 7:	Regulation der hepatischen Gallensäuresynthese durch FGF-19	26
Abb. 8:	FXR-Regulationsmechanismen des enterohepatischen Kreislaufs der Gallensäuren	27
Abb. 9:	Zirkadianer Rhythmus von FGF-19-, Gallensäure- (BA) und C4- Konzentrationen	30
Abb. 10:	Effekte der Behandlung mit Cholestyramin und Chenodeoxycholsäure (CDCA) auf FGF-19-Serumspiegel und Gallensäuresynthese	31
Abb. 11:	Elektrodenplatzierung bei der BIA-Messung	44
Abb. 12:	FGF-19-Serumkonzentrationen der Kontrollen	59
Abb. 13:	FGF-19-Serumkonzentrationen der Übergewichtigen	59
Abb. 14:	FGF-19-Serumkonzentrationen der Adipösen	60
Abb. 15:	Triglyzeridserumkonzentrationen der Kontrollen	64
Abb. 16:	Triglyzeridserumkonzentrationen der Übergewichtigen	64
Abb. 17:	Triglyzeridserumkonzentrationen der Adipösen	65
Abb. 18:	FGF-19-Serumkonzentrationen der Männer und Frauen	67
Abb. 19:	Zusammenhang zwischen BMI und Nüchtern-FGF-19- Serumkonzentrationen	68
Abb. 20:	Zusammenhang zwischen Körperfettmasse (kg) und Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen	69
Abb. 21:	Zusammenhang zwischen Körperfettmasse (%) und Nüchtern-FGF-19- Serumkonzentrationen bei Männern	69
Abb. 22:	Zusammenhang zwischen Extrazellulärer Körpermasse (kg) und FGF-19-Serumkonzentrationen 6h nach oFTT	70
Abb. 23:	Zusammenhang zwischen Nüchtern-FGF-19- und Triglyzeridserumkonzentrationen 6h nach oFTT	71

## Abkürzungsverzeichnis

AASLD	American Association for the Study of Liver Diseases
ACC2	Acetyl-CoA-Carboxylase 2
AFLD	Alcoholic Fatty Liver Disease
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ATF4	Activating Transcription Factor 4
BCM	Body Cell Mass (Muskel- und Organmasse)
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Body Mass Index
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius
C4	7 $\alpha$ -hydroxy-4-cholesten-3-on
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CDCA	Chenodeoxycholsäure
CIPO	Chronisch Intestinale Pseudoobstruktion
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CT	Computertomographie
CYP7A1	Cholesterin-7 $\alpha$ -hydroxylase
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DGVS	Deutsche Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
EASL	European Association for the Study of the Liver
ECM	Extracellular Mass (Extrazellulärmasse)
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EUFS	Einfach ungesättigte Fettsäuren
FFM	Fettfreie Masse
FGF	Fibroblast Growth Factor
FGF-19	Fibroblast Growth Factor 19
FGFR-4	Fibroblast Growth Factor Rezeptor 4
FM	Fettmasse
FXR	Farnesoid X Rezeptor
g	Gramm
GCKR	Glucokinase-Regulator

GFS	Gesättigte Fettsäuren
h	hour, Stunde
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HDL	High Density Lipoprotein
HIV-1	Humane Immundefizienz-Virus 1
JNK	c-JUN N-terminale Kinase
Kcal	Kilokalorien
kDa	Kilo Dalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KH	Kohlenhydrate
kJ	Kilojoule
kPa	Kilopascal
LCT	Long Chain Triglycerides
LDL	Low Density Lipoprotein
LYPLAL1	Lysophospholipase-Like Protein 1
m	männlich
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
Max	Maximum
MBOAT7	Membrane-Bound O-Acyltransferase Domain-Containing Protein 7
MC	Morbus Crohn
mg	Milligramm
min	Minuten
Min	Minimum
μl	Mikroliter
ml	Milliliter
mRNA	messenger RNA
MRT	Magnetresonanztomographie
MUFS	Mehrfach ungesättigte Fettsäuren
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NAFLD	Non-Alcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Non-Alcoholic Steatohepatitis
NCAN	Neurocan

nm	Nanometer
oFTT	oraler Fetttoleranztest
p	Signifikanzniveau
PBC	Primäre biliäre Cholangitis
PNPLA3	Adiponutrin
r	Korrelationskoeffizient
RAR	Retinoic Acid Receptor (Retinsäurerezeptor)
SA	Standardabweichung
SHP	Small Heterodimer Partner
t	time, Zeit
TBW	Total Body Water (Gesamtkörperwasser)
TM6SF2	Transmembrane 6 superfamily 2
TPN	Total Parenteral Nutrition
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
vs.	versus
w	weiblich
WHO	Weltgesundheitsorganisation

# 1 Zusammenfassung

## 1.1 Untersuchungen zum gastrointestinalen Hormon Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) bei übergewichtigen und adipösen Patienten mit nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD)

**Hintergrund:** Überernährung und daraus resultierendes Übergewicht und Adipositas sind die wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD). Tierexperimente und klinische Studien zeigen, dass das kürzlich identifizierte gastrointestinale Hormon Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) möglicherweise einen NAFLD-protectiven Effekt hat, indem es die  $\beta$ -Oxidation in der Leber induziert und gleichzeitig die Triglyzeridsynthese hemmt. Vor diesem Hintergrund war es das Ziel unserer Studie zu untersuchen, ob sich die FGF-19-Serumkonzentrationen bei übergewichtigen ( $\text{BMI} \geq 25,5 \text{ kg/m}^2$ ) und adipösen ( $\text{BMI} > 30,0 \text{ kg/m}^2$ ) NAFLD-Probanden von gesunden Kontrollen nüchtern und nach oraler Fettbelastung unterscheiden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob biochemische Basisparameter, Ernährung, BMI, Körperzusammensetzung, Alter oder Geschlecht einen Einfluss auf die FGF-19-Spiegel haben.

**Patienten und Methoden:** 26 NAFLD-Patienten [14 Übergewichtige ( $\text{BMI} 27,7 \text{ kg/m}^2$ ), 12 Adipöse ( $\text{BMI} 36,7 \text{ kg/m}^2$ )] und 16 Kontrollen ( $\text{BMI} 24,0 \text{ kg/m}^2$ ) wurden in die Studie eingeschlossen. Mittels 3-Tage-Ernährungsprotokoll wurde die Zufuhr an Gesamtenergie und Makronährstoffen der Probanden berechnet (EBISpro<sup>®</sup>). Die Körperzusammensetzung wurde durch Bioimpedanzanalysen (BIA) ermittelt. Nach 10-stündiger Nüchternphase wurden die FGF-19-Spiegel im peripheren Serum mittels ELISA bestimmt. Anschließend erhielt jeder Proband 1 g Fett/kg KG (Calogen<sup>®</sup>) in oraler Form. Der Verlauf der FGF-19- und Triglyzeridspiegel wurde nach 2, 4 und 6 Stunden bestimmt.

**Ergebnisse:** Die Nüchtern-FGF-19-Spiegel der adipösen NAFLD-Probanden sind signifikant geringer im Vergleich zu den normalgewichtigen Kontrollen ( $99,6 \pm 47,8$  vs.  $187,6 \pm 92,3 \text{ pg/ml}$ ,  $p=0,01$ ). Auch die übergewichtigen NAFLD-Patienten zeigen geringere Nüchtern-FGF-19-Spiegel gegenüber den Kontrollen ( $127,9 \pm 73,7$  vs.  $187,6 \pm 92,3 \text{ pg/ml}$ ,  $p=0,06$ ). In der gesamten Studiengruppe besteht ein negativer Zusammenhang zwischen BMI und den Nüchtern-FGF-19-Konzentrationen ( $r=-0,439$ ,  $p=0,004$ ). In allen drei Gruppen kommt es nach oraler Fettbelastung zum Anstieg der FGF-19-Konzentrationen. Auffällig ist, dass die übergewichtigen NAFLD-

Patienten zwei Stunden nach der Fettbelastung signifikant ( $p=0,004$ ) geringere FGF-19-Spiegel erreichen als die Kontrollen ( $143,7 \pm 61,4$  vs.  $287,4 \pm 177,7$  pg/ml). Die maximale Hormonkonzentration wird in allen drei Gruppen nach vier Stunden festgestellt und ist bei den Kontrollen am höchsten. Insgesamt weisen übergewichtige NAFLD-Patienten zu allen drei postprandialen Messzeitpunkten geringere FGF-19-Spiegel gegenüber Kontrollen und Adipösen auf. Die maximale Triglyzeridkonzentration wird bei den Kontrollen zwei Stunden und bei den adipösen und übergewichtigen NAFLD-Probanden vier Stunden nach Fettbelastung erreicht. Erstaunlicherweise besteht zwischen allen drei Gruppen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der mittleren Energie-, Kohlenhydrat-, Fett- und Eiweißzufuhr. Es gibt keine Korrelationen zwischen der Zufuhr an Gesamtenergie, Makronährstoffen und den Nüchtern-FGF-19-Spiegeln. Alter und Geschlecht zeigen keinen Effekt auf die Nüchtern- oder die postprandialen FGF-19-Konzentrationen.

**Schlussfolgerungen:** Wir etablierten einen körpergewichtsbezogenen oralen Fetttoleranztest (oFTT), der eine beeinträchtigte FGF-19-Sekretion bei übergewichtigen und adipösen NAFLD-Probanden demonstriert. Die Daten zeigen einen signifikanten Unterschied der Nüchtern-FGF-19-Konzentrationen zwischen Kontrollen und adipösen NAFLD-Patienten. Zwei Stunden nach der oralen Fettbelastung haben auch übergewichtige NAFLD-Patienten deutlich geringere FGF-19-Spiegel im Vergleich zu den Kontrollen. Da Marker der Gallensäuresynthese bei unseren NAFLD-Probanden postprandial nicht gesunken sind, wurde die hepatische Gallensäuresynthese vermutlich nicht reprimiert. In dieser Studie wurden die Nüchtern-FGF-19-Spiegel nicht durch Alter, Geschlecht oder Ernährung beeinflusst. Allerdings korrelieren der BMI aller Studienteilnehmer sowie die prozentuale Körperfettmasse der Männer negativ mit den Nüchtern-FGF-19-Konzentrationen. Eine verminderte gastrointestinale FGF-19-Sekretion bei Übergewicht und Adipositas, wie diese Studie zeigt, könnte an der Pathogenese der NAFLD beteiligt sein; hohe Nüchtern-FGF-19-Spiegel bei gesunden Kontrollen sind möglicherweise als NAFLD-protektiv zu werten. Den verminderten FGF-19-Konzentrationen bei übergewichtigen bzw. adipösen NAFLD-Probanden könnte ein verändertes intestinales FXR-Signaling zugrunde liegen. Inwiefern der hepatische Rezeptor FGFR4 und/oder der Kofaktor  $\beta$ -Klotho an einer gestörten hepatischen Antwort auf FGF-19 bei NAFLD-Probanden beteiligt sind, muss in weiteren funktionellen Studien untersucht werden.

## 1.2 Studies on the gastrointestinal hormone fibroblast growth factor 19 (FGF19) in overweight and obese patients with non-alcoholic fatty liver diseases (NAFLD)

**Background:** Excess nutrition and resulting overweight and obesity are the most important risk factors for developing NAFLD. Experimental and clinical studies show that the novel gastrointestinal hormone Fibroblast Growth Factor 19 (FGF19) could possibly play a beneficial role in NAFLD by increasing hepatic  $\beta$ -oxidation and simultaneously inhibiting triglyceride synthesis. The aim of our study was to investigate FGF19 serum concentrations in overweight (BMI  $\geq 25.5$  kg/m<sup>2</sup>) and obese (BMI  $> 30.0$  kg/m<sup>2</sup>) NAFLD patients, and compare these to healthy volunteers in a fasted state and after a defined oral fat load. Furthermore, we investigated whether basic biochemistry, nutrition, BMI, body composition, age or sex influence FGF19 concentrations.

**Patients and methods:** In total, we recruited 26 NAFLD patients [14 overweight (mean BMI 27.7 kg/m<sup>2</sup>) and 12 obese (mean BMI 36.7 kg/m<sup>2</sup>)] as well as 16 healthy controls (mean BMI 24.0 kg/m<sup>2</sup>). Total energy and macronutrients were calculated from 3-day food diaries (EBISpro<sup>®</sup>). Body composition was assessed using bioimpedance analysis (BIA). Serum FGF19 values were determined by ELISA after 10 hours of overnight fasting. Subsequently, all individuals received 1g fat (Calogen<sup>®</sup>) per kg body weight orally. FGF19 and triglyceride concentrations were measured after 2, 4, and 6 hours. **Results:** Fasting FGF19 concentrations of obese NAFLD subjects were significantly lower as compared to normal weight controls ( $99.6 \pm 47.8$  vs.  $187.6 \pm 92.3$  pg/ml,  $p=0.01$ ). Overweight NAFLD patients also showed markedly lower fasting FGF19 values in comparison to controls ( $127.9 \pm 73.7$  vs.  $187.6 \pm 92.3$  pg/ml,  $p=0.06$ ). Among all study participants there was a negative correlation between BMI and fasting FGF19 concentrations ( $r = -0.439$ ,  $p=0.004$ ). In all three groups there was an increase in FGF19 concentrations after the oral fat load. Overweight but not obese NAFLD patients had significantly ( $p=0.004$ ) lower FGF19 values 2 hours after the fat load as compared to controls ( $143.7 \pm 61.4$  vs.  $287.4 \pm 177.7$  pg/ml). FGF19 serum concentrations peaked after 4 hours in all groups and were highest in controls. Overall, overweight NAFLD patients displayed the lowest FGF19 concentrations at all postprandial time points. After the oral fat load, the maximum concentration of triglycerides was reached after 2 hours in controls and 4 hours in overweight and obese NAFLD subjects, respectively. Surprisingly there were

no significant differences in mean energy, carbohydrate, fat or protein intake between all three groups. There were no correlations between total energy consumed, macronutrient intake, and fasting FGF19 values. Age and sex showed no effect on fasting or postprandial FGF19 concentrations.

**Conclusions:** In this study, we established an oral fat tolerance test (oFTT), which demonstrates impaired FGF19 release in overweight and obese NAFLD patients. Our data show significant differences in fasting FGF19 concentrations between controls and obese NAFLD patients. Overweight NAFLD patients have significantly lower FGF19 values 2 hours after fat load as compared to controls. Since the markers of bile acid biosynthesis did not decrease postprandially in NAFLD patients, the hepatic bile acid biosynthesis was presumably not repressed. In this study, baseline FGF19 concentrations were not influenced by age, sex or dietary intake. Nevertheless, BMI of all study participants and percentage body fat mass in men correlated negatively with fasting FGF19. Decreased gastrointestinal FGF19 secretion in overweight and obesity, as this study demonstrates, could thus be involved in the pathogenesis of NAFLD; high fasting FGF19 concentrations in healthy controls might even be protective against NAFLD. The reduced FGF19 values in overweight and obese NAFLD patients might reflect altered intestinal FXR signaling. How the hepatic receptor FGFR4 and / or its cofactor  $\beta$ Klotho modulate the hepatic response to FGF19 in NAFLD subjects needs to be examined further in functional studies.

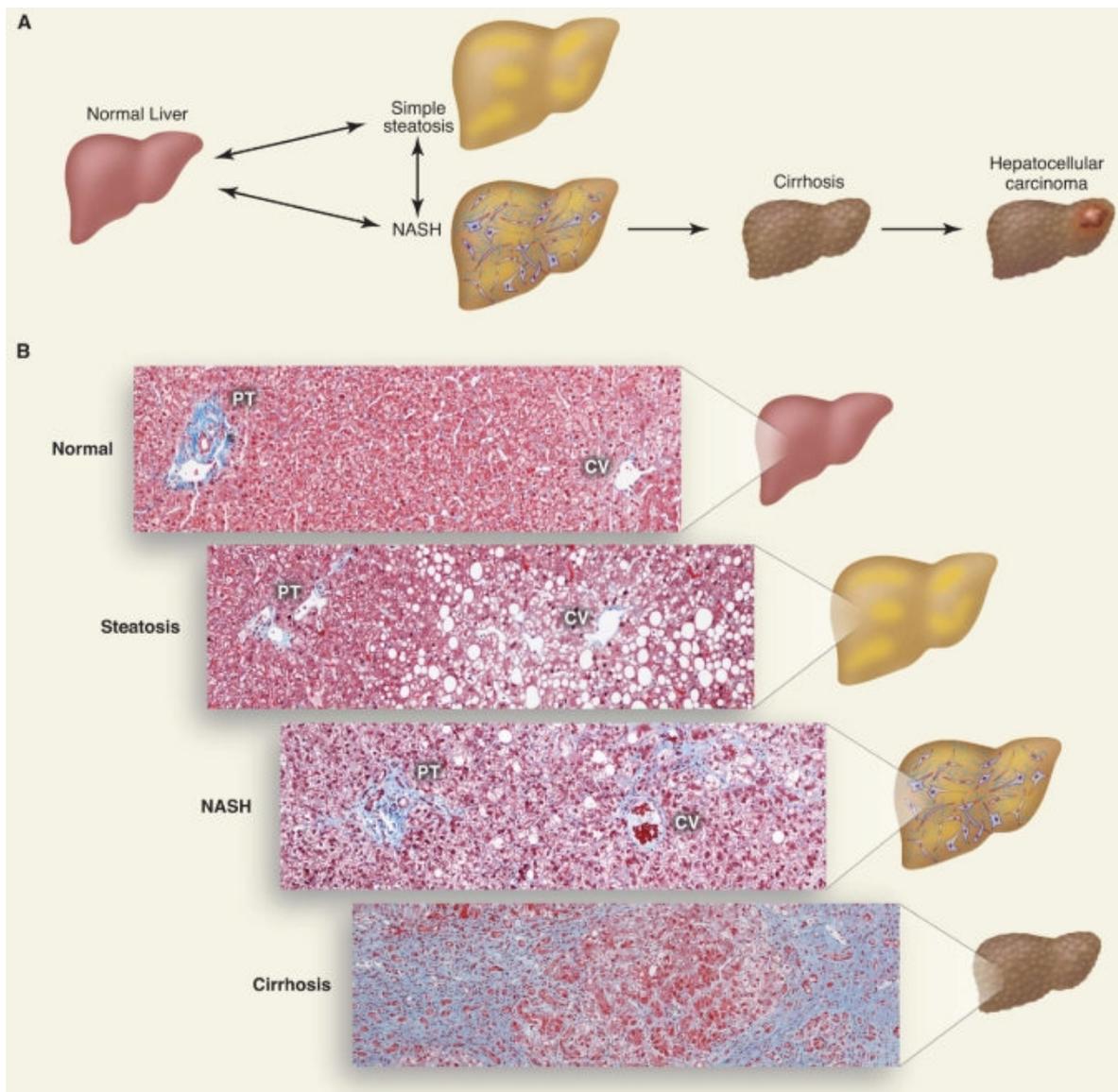
## 2 Einleitung

### 2.1 Nichtalkoholische Fettlebererkrankungen

#### 2.1.1 Definition und Einteilung

Nichtalkoholische Fettlebererkrankungen (non-alcoholic fatty liver diseases, NAFLD) sind durch eine hepatische Fettakkumulation von mindestens 5% der Hepatozyten charakterisiert, die jedoch nicht alkoholbedingt sind (Kleiner et al. 2005, Roeb et al. 2015). Der Begriff NAFLD wird in der Literatur für ein breites Spektrum von Fettlebererkrankungen verwendet. Andererseits gibt es viele Ursachen für eine Leberverfettung, wobei auch mehrere Faktoren gemeinsam an der Krankheitsentstehung beteiligt sein können. Sowohl auf einer Konferenz der *European Association for the Study of the Liver (EASL)* im Jahr 2009 als auch in der aktuellen S2k-Leitlinie der *Deutschen Gesellschaft für Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS)* wurde eine Unterscheidung der primären (metabolischen) von der sekundären NAFLD vorgeschlagen (Ratziu et al. 2010, Roeb et al. 2015). Die primäre Steatose (Fettleber) ist mit Insulinresistenz und Faktoren des metabolischen Syndroms verbunden und erfordert den Ausschluss von Virus- und Autoimmunerkrankungen sowie übermäßigem Alkoholkonsum. Die sekundäre NAFLD ist die Folge anderer Faktoren, zu denen hepatische Stoffwechselerkrankungen, die chronische Virushepatitis, Medikamente, Toxine, total parenterale Ernährung (TPN) oder Adipositaschirurgie zählen (Zauner et al. 2007, Dancygier 2009, Bellentani et al. 2010). Die EASL-Konferenz gab zum Ausschluss einer alkoholbedingten Fettleber (AFLD) einen Alkoholkonsum von < 30 g/Tag für Männer und < 20 g/Tag für Frauen vor (Ratziu et al. 2010). Demgegenüber wurde in der aktuellen DGVS-Leitlinie ein täglicher Alkoholgrenzwert von 20 g für Männer und 10 g für Frauen zur Abgrenzung der NAFLD von der AFLD angegeben (Roeb et al. 2015). Histologen beurteilen die Leber aufgrund ihrer prozentualen Verfettung der Hepatozyten und ordnen sie dann dem Grad 1 (5-33%), 2 (34-66%) oder 3 (>66%) zu (Kleiner et al. 2005, Roeb et al. 2015). Eine Steatose mit zusätzlicher Zellschädigung und entzündlichen Veränderungen definiert die nichtalkoholische Steatohepatitis (non-alcoholic steatohepatitis, NASH). Schließlich kann die NASH zur

Leberfibrose, Zirrhose und letztendlich zum hepatozellulären Karzinom (HCC) führen (Paradis und Bedossa 2008). Abbildung 1 fasst das gesamte Krankheitsspektrum der NAFLD zusammen.



**Abb. 1: Krankheitsspektrum der NAFLD, A) Schematische Darstellung der Progression der NAFLD, B) Histologische Schnitte veranschaulichen normale Leber, Steatose, NASH und Leberzirrhose (aus Cohen et al. 2011).**

### 2.1.2 Prävalenz der NAFLD

Ungefähr 10 bis 20 % der Gesamtbevölkerung sind von einer nichtalkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) betroffen (Lewis und Mohanty 2010). Die NAFLD stellt die häufigste chronische Lebererkrankung in den westlichen Ländern dar, und ihre Prävalenz beträgt 20-30%. Schätzungen zufolge haben 2-3% der Allgemeinbevölkerung eine nichtalkoholische Steatohepatitis (NASH) (Bedogni et al. 2005). Möglicherweise ist die NAFLD auch die häufigste Lebererkrankung weltweit. Die Prävalenz hängt von der jeweiligen Studiengruppe und den diagnostischen Verfahren ab (Bellentani und Marino 2009). In den letzten Jahren wurden bemerkenswert viele Studien zur NAFLD/NASH-Prävalenz, insbesondere aus den USA, Japan und Italien, publiziert (Bellentani und Marino 2009, Bellentani et al. 2010). Die Dallas Heart- und die Dionysos-Studie ergaben, dass 30% der Erwachsenen in den USA und 25% der Erwachsenen in Italien eine NAFLD haben (Bellentani et al. 2010). Bei 9 bis 30% der erwachsenen Japaner wurde eine NAFLD sonographisch diagnostiziert (Hashimoto und Tokushige 2011). In einer Ultraschall-basierten Studie bei 11.091 Koreanern hatten 27% der Erwachsenen eine Fettleber; obwohl die NAFLD häufig mit Übergewicht assoziiert ist, waren 37% der Patienten normalgewichtig (BMI < 25 kg/m<sup>2</sup>) (Sung und Kim 2011).

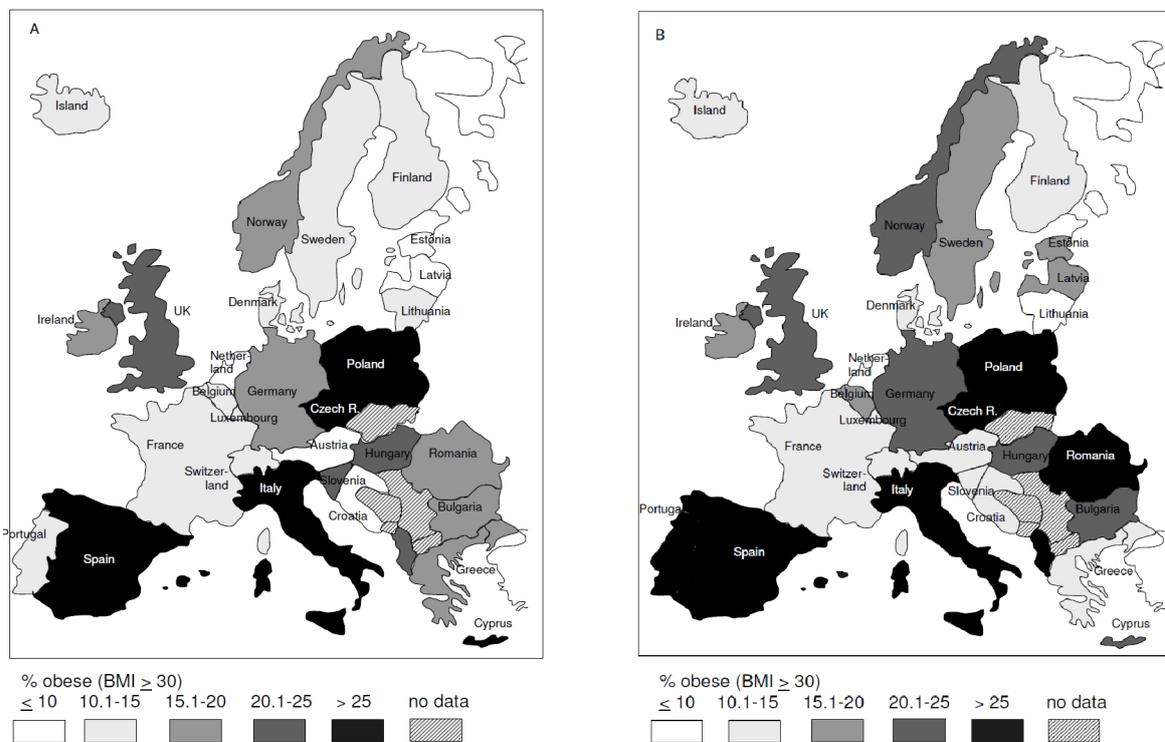
Auffallend ist, dass nur wenige Daten zur NAFLD-Prävalenz in Deutschland vorliegen. Eine Arbeitsgruppe aus Regensburg ermittelte bei stationären und ambulanten Patienten aller Fachrichtungen des Universitätsklinikums mittels Ultraschall eine NAFLD-Prävalenz von 40% (Kirovski et al. 2010). Interessanterweise berichtet kürzlich ein Forscherteam aus Ulm über eine Biopsie-gesicherte NAFLD-Prävalenz von 70% bei adipösen, viszeralchirurgischen Patienten. Zudem zeigt der BMI eine starke positive Korrelation mit dem Leberfettgehalt und der NASH-Prävalenz (Hillenbrand et al. 2015).

Die Häufigkeit nimmt mit der Zahl der Erkrankungen, die das metabolische Syndrom charakterisieren, deutlich zu. So wird bei 30 bis 50% der Diabetiker, 80 bis 90% der adipösen Erwachsenen und bei bis zu 90% der Patienten mit Hyperlipidämie eine NAFLD diagnostiziert.

Die Fettlebererkrankung betrifft nicht nur Erwachsene, sondern auch 3 bis 10% der Kinder. Bei adipösen Kindern wird sogar in 40 bis 70 % der Fälle eine Fettleber diagnostiziert (Bellentani et al. 2010). Eine aktuelle Meta-Analyse ergab bei Kindern /

Jugendlichen eine NAFLD-Prävalenz von 7,6% und bei adipösen 34,2% (Anderson et al. 2015).

In Europa hat die Adipositas epidemische Ausmaße erreicht (Abb. 2). Bis zu 28% der Männer und bis zu 37% der Frauen haben einen Body Mass Index  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>; dabei sind die Prävalenzzahlen in Zentral-, Ost- und Südeuropa höher als in West- und Nordeuropa (Berghöfer et al. 2008). In Deutschland ist die Adipositas Prävalenz zwischen 1998 und 2011 bei den Männern von 18,9 auf 23,3% und bei den Frauen von 22,5 auf 23,9% gestiegen (Mensink et al. 2013). Demgegenüber waren in den USA zwischen 2011 und 2014 sogar 36,5% der Erwachsenen adipös (Ogden et al. 2015). Mit der weiteren Zunahme der Adipositas ist auch eine stetige Zunahme der NAFLD zu erwarten.



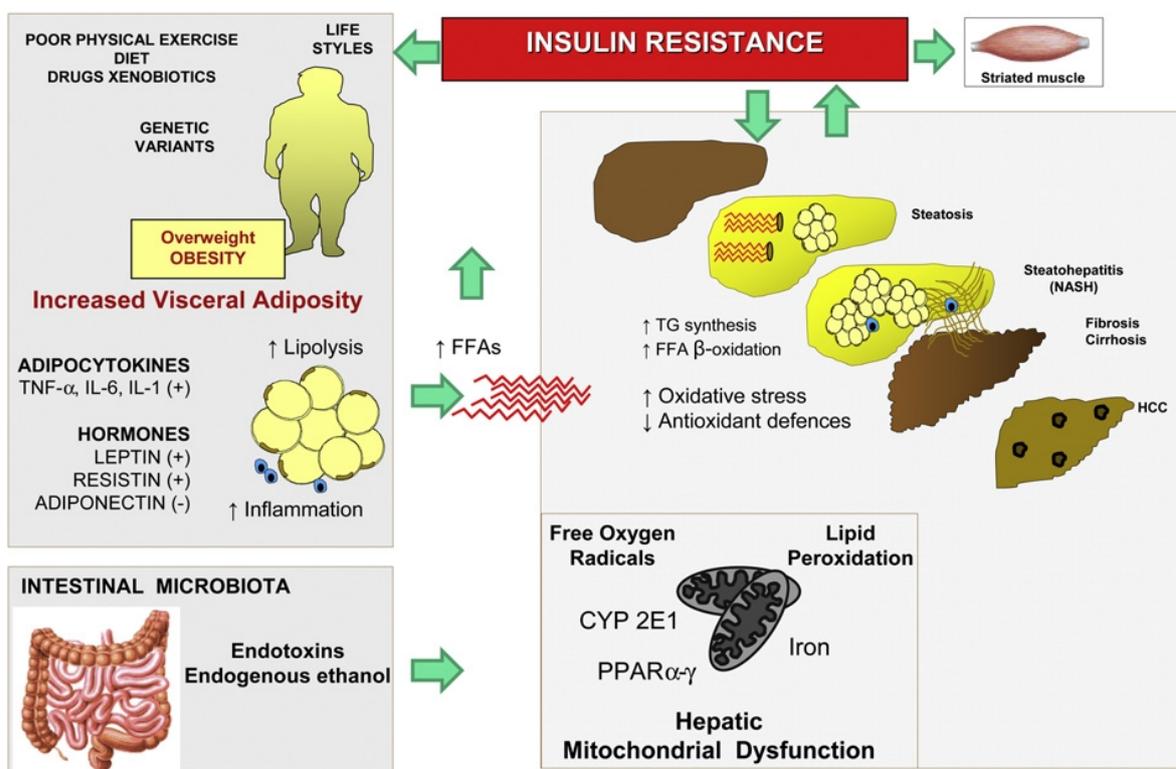
**Abb. 2: Regionale Unterschiede in der Prävalenz der Adipositas (BMI  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) in Europa (A Männer, B Frauen) (aus Berghöfer et al. 2008).**

### 2.1.3 Pathogenese der NAFLD

Es existiert eine Vielzahl an wissenschaftlichen Arbeiten, die sich mit der Pathogenese der NAFLD beschäftigen (Chitturi und Farrell 2001, Gentile und Pagliassotti 2008, Postic und Girard 2008, Krawczyk et al. 2010). Abbildung 3 zeigt die Faktoren, die an der Entwicklung der NAFLD/NASH und deren Progression beteiligt sind (Krawczyk et al. 2010). Die molekularen Mechanismen, die an der Entstehung der NAFLD mitwirken, sind komplex, weshalb die Pathomechanismen immer noch unvollständig verstanden sind (Browning und Horton 2004, Postic und Girard 2008). Es kommt zur Verfettung der Hepatozyten, wenn die Synthese und/oder die Zufuhr von Triglyzeriden den hepatischen Abbau und den Abtransport übersteigen. Die übermäßige hepatische Fetteinlagerung kann auf eine gesteigerte Aufnahme von Fettsäuren aus dem Fettgewebe, eine erhöhte *de novo* Lipogenese, eine erhöhte Zufuhr an Nahrungsfett, eine verminderte mitochondriale  $\beta$ -Oxidation, eine verringerte Clearance von VLDL (very-LDL) Partikeln oder auf eine Kombination dieser Faktoren zurückzuführen sein (Byrne et al. 2009).

An der Ausbildung der verschiedenen Krankheitsspektren der NAFLD sind mehrere Faktoren beteiligt (Abb. 3). Bei der primären NAFLD besitzen die viszerale Adipozytenmasse und die Insulinsresistenz im Fettgewebe zentrale Bedeutung, welche zur hepatischen Akkumulation von Triglyzeriden führen. Die Insulinresistenz steigert durch Induktion der hormonsensitiven Lipase im Fettgewebe die Lipolyse und somit die Freisetzung von Fettsäuren. Hierdurch erhöhen sich die Plasmaspiegel der freien Fettsäuren (FFS) im portalvenösen Blut, welche von der Leber aufgenommen und zur Lipogenese genutzt werden. Die akkumulierten Triglyzeride in der Leber entstammen zu 60% aus den freien Fettsäuren des Plasmapools, zu 25% der *de novo* Lipogenese und zu 15% der Ernährung (Tamura und Shimomura 2005). Schließlich wird der hepatische Lipidexport als VLDL durch eine verminderte Synthese von Apolipoprotein B48 und B100 beeinträchtigt. Die Zunahme der Triglyzeridsynthese und der gleichzeitig verminderte Lipidabtransport führen somit zur Verfettung der Leber (Musso et al. 2003). Von besonderer Bedeutung scheint auch das viszerale Fettgewebe zu sein, welches direkt mit Leberentzündung und Fibrose, unabhängig von Insulinresistenz und Hepatosteatose, assoziiert ist (van der Poorten et al. 2008). Die „Two hit“- Hypothese ist ein Erklärungsmodell für das Fortschreiten einer Steatose zur Steatohepatitis, wobei dieser Mechanismus neuerdings in Frage gestellt wird. Hierbei stellt der „erste Hit“ die übermäßige

hepatische Fettakkumulation und der „zweite Hit“ die Leberzellschädigung und Entzündung dar (Ratziu et al. 2010). Neben der zentralen Rolle der Insulinresistenz sind in den letzten Jahren auch zahlreiche Untersuchungen zur Bedeutung der sogenannten Adipokine in der Pathogenese der NAFLD durchgeführt worden (Qureshi und Abrams 2007, Wree et al. 2011). Auch die intestinale Mikroflora könnte an der Krankheitsentwicklung der Fettleber beteiligt sein (Dumas et al. 2006). Adipöse Patienten weisen im Vergleich zu schlanken Menschen eine andere Darmflora auf. Interessanterweise kann durch eine Diät die Darmflora beeinflusst werden (Ley et al. 2006).



**Abb. 3: Pathogenese der NAFLD/NASH.**

Abkürzungen: FFA, freie Fettsäuren; HCC, hepatozelluläres Karzinom; PPARs, Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren; TG, Triglyzeride; TNF, Tumornekrosefaktor. Symbole: erhöht (↑); verringert (↓); stimulierender Effekt (+); inhibitorischer Effekt (-) (aus Krawczyk et al. 2010).

#### **2.1.4 Risikofaktoren / Ursachen der NAFLD**

Obwohl unterschiedliche Definitionen des metabolischen Syndroms existieren, die zu unterschiedlichen Prävalenzschätzungen führen, sind alle Faktoren dieses Krankheitsbildes häufig mit der NAFLD assoziiert. Deshalb wird die NAFLD heute als hepatische Manifestationsform des metabolischen Syndroms, als Folge des Nahrungsüberangebotes und der körperlichen Inaktivität verstanden (Jornayvaz et al. 2010). NAFLD-Patienten sind häufig adipös und ernähren sich meist hyperkalorisch (Kacerovsky und Roden 2007). Übermäßiger Verzehr von Einfachzuckern fördert die NAFLD-Entwicklung. Glucose- oder saccharosehaltige Getränke steigern die *de novo* Lipogenese sowohl bei adipösen als auch bei schlanken Personen (Mc Devitt et al. 2001). Ebenso fördert eine hohe Zufuhr an Fructose die *de novo* Lipogenese im Tiermodell und beim Menschen (Haidari et al. 2002, Faeh et al. 2005, Stanhope et al. 2009). Eine niederländische Arbeitsgruppe hat nachgewiesen, dass auch eine isokalorische fettreiche Ernährung zur Zunahme des intrahepatischen Fettgehalts bei übergewichtigen Männern führt (van Herpen et al. 2011).

Die Häufigkeit der NAFLD variiert je nach ethnischer Zugehörigkeit. Sie ist höher bei Weißen und Hispanics und niedriger bei Afroamerikanern (Browning et al. 2004, Bellentani et al. 2010, Ratzu et al. 2010). Zunehmende Bedeutung gewinnt auch die Identifizierung von genetischen Polymorphismen, welche den Fettstoffwechsel beeinflussen (Romeo et al. 2008). Hierzu zählt insbesondere die genetische Variante p.Ile148Met des Enzyms Adiponutrin (PNPLA3), die die Triglyzeridsynthese steigert und mit der Pathogenese der NAFLD assoziiert ist (Kumari et al. 2012, Li et al. 2012, Krawczyk et al. 2015). Darüber hinaus wurden bei weiteren Assoziationsstudien Varianten der Gene MBOAT7, TM6SF2, NCAN, GCKR und LYPLAL1 identifiziert, die mit der NAFLD assoziiert sind (Speliotes et al. 2011).

#### **2.1.5 Diagnose der NAFLD**

Patienten mit einfacher Steatose sind in der Regel asymptomatisch, was eine Ursache dafür sein kann, dass den meisten NAFLD-Patienten ihre Erkrankung nicht bekannt ist (Hashimoto und Tokushige 2011, Park et al. 2011). Einige Patienten berichten über Müdigkeit, Druckgefühl oder Schmerzen im Bereich des rechten

Rippenbogens. Um eine alkoholbedingte Fettleber (alcoholic fatty liver disease, AFLD) ausschließen zu können, ist die anamnestische Erfassung der Alkoholzufuhr zwingend erforderlich. Hierfür stehen Dokumentations- und Fragebögen zur Verfügung (Babor et al. 2001).

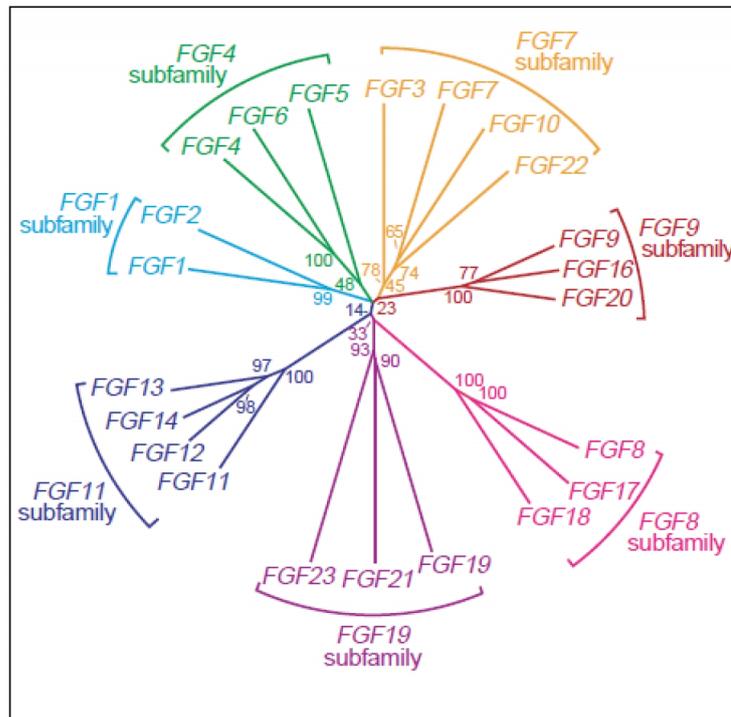
Bei auffälligen Leberwerten können Ultraschall, Computertomographie (CT) oder Magnetresonanztomographie (MRT) zur weiteren Diagnostik eingesetzt werden. Diese bildgebenden Verfahren können jedoch keine histologische Steatose < 20-30% sowie eine NASH oder Fibrose sicher diagnostizieren. Trotz mäßiger Sensitivität und Spezifität gilt der Ultraschall als erstes Screeningverfahren in der klinischen Praxis (Ratziu et al. 2010). Hierbei erfolgt die Quantifizierung des Leberverfettungsgrades in leicht, mittel und schwer, welche vom jeweiligen Untersucher abhängig ist. Patienten mit einer sonographisch diagnostizierten Fettleber und einem Alkoholkonsum von weniger als 20 g pro Tag werden als NAFLD-Patienten eingestuft (Park et al. 2011). Auch bei großen Bevölkerungsstudien wird die NAFLD-Diagnostik in der Regel mittels Ultraschall durchgeführt, da CT und MRT aufgrund ihrer Kostenintensität und geringen Praktikabilität nicht zum Einsatz kommen (Bellentani und Marino 2009). Für die Differenzierung zwischen NAFLD und NASH gilt die Leberbiopsie nach wie vor als Goldstandard, welche jedoch mit Risiken, insbesondere Blutungen, verbunden ist (Terjung et al. 2003, Zauner et al. 2007).

In der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin II des Universitätsklinikums Homburg wird als nicht invasive Maßnahme der FibroScan<sup>®</sup> eingesetzt, um die Entwicklung der Leberfibrose zu erfassen. In klinischen Studien wird jetzt die Software CAP<sup>™</sup> (controlled attenuation parameter) zusammen mit dem FibroScan<sup>®</sup> genutzt. CAP<sup>™</sup> ist eine Messgröße für die Schallabschwächung, die in der abnehmenden Amplitude der Ultraschallwellen bei ihrer Ausbreitung durch die Leber zum Ausdruck kommt. Eine genaue Quantifizierung des Leberfettgehaltes erscheint somit möglich (Sasso et al. 2012, Arslanow et al. 2016). Seit kurzer Zeit versuchen Wissenschaftler zudem Serum- oder Plasma-Biomarker im Rahmen von Metabolomics-Studien zu identifizieren, die charakteristisch speziell für NAFLD und NASH sind (Byrne et al. 2009, Barr et al. 2010, Kalhan et al. 2011).

## 2.2 Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19)

### 2.2.1 FGF-Familie und Einordnung von FGF-19

Seit etwa 40 Jahren werden die Funktionen von Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (Fibroblast Growth Factor, FGF) untersucht. Fibroblast Growth Factor (FGF) ist der Oberbegriff für eine große Gruppe von FGF-Untergruppen, die als FGF-Familie bezeichnet wird. Bis heute wurden 22 Mitglieder, FGF-1 bis FGF-23, bei Mensch und Maus identifiziert (Itoh und Ornitz 2004). FGF-19 beim Menschen entspricht FGF-15 bei der Maus. Diese Wachstumsfaktoren wurden in Wirbellosen und Wirbeltieren identifiziert. FGFs sind Polypeptide mit einer molekularen Masse zwischen 17 und 34 kDa (Ornitz und Itoh 2001). Die Prototypen, FGF-1 (acidic-FGF) und FGF-2 (basic-FGF), wurden ursprünglich als Mitogene für Fibroblasten aus dem Gehirn und der Hypophyse von Rindern isoliert und charakterisiert (Thomas et al. 1983, Böhlen et al. 1984). Die humane FGF-Familie wird heute aufgrund phylogenetischer Analysen in sieben Subgruppen eingeteilt (Abb. 4). Die Mitglieder einer FGF-Untergruppe besitzen Sequenzähnlichkeit, vergleichbare biochemische Eigenschaften und haben eine ähnliche Entwicklungsbiologie (Itoh und Ornitz 2004). Die sieben Unterfamilien lassen sich wiederum nach ihrem Wirkmechanismus in autokrine / parakrine, intrazelluläre und endokrine Wachstumsfaktoren einteilen (Itoh 2010). FGFs werden in sich entwickelndem und adultem Gewebe exprimiert und besitzen diverse biologischen Funktionen *in vivo* und *in vitro*. Sie sind Regulatoren der Proliferation, Migration und Zelldifferenzierung, und sie steuern die Wundheilung, die Mitogenese sowie die Angiogenese (Itoh und Ornitz 2004). Die Signalübertragung erfolgt über die Bindung der FGFs an Zelloberflächenrezeptoren. Vier FGF-Rezeptoren (FGFR<sub>1-4</sub>) sind bei Mensch und Maus identifiziert worden (Ornitz und Itoh 2001). Die FGF-19 Familie bildet eine definierte Untergruppe innerhalb der FGF-Familie (Kharitonov 2009). FGF-19, 21 und 23 wirken wie Hormone endokrin und kommen nur in Wirbeltieren vor (Itoh 2010).



**Abb. 4: FGF-Gen-Familie beim Menschen: Anordnung der 22 FGF-Gene in sieben Unterfamilien durch phylogenetische Analysen (aus Itoh und Ornitz 2004).**

### 2.2.2 FGF-19 - Evolutionsgeschichte

Der Fibroblast Growth Factor 19 gehört zur FGF-19 Unterfamilie, welche als neue Gruppe von endokrinen Faktoren, die diverse Stoffwechselforgänge regeln, definiert worden ist (Kurosu und Kuro-o 2009). Eine japanische Arbeitsgruppe berichtet 1999, dass sie einen neuen Fibroblast Growth Factor im menschlichen fetalen Gehirn identifiziert hat. Dieser Faktor wurde als 19. Mitglied der FGF-Familie dokumentiert und somit FGF-19 benannt. Die Autoren berichten, dass FGF-19 eine wichtige Rolle in der Entwicklung des Gehirns während der Embryogenese spielen könnte (Nishimura et al. 1999). Im gleichen Jahr publizierte ein amerikanisches Forscherteam, dass FGF-19 in fetalem Knorpel, fetaler Haut, Plazentazotten, Nabelschnur und adulten Netzhaut, Niere, Gallenblase sowie im Dünndarm exprimiert und in Kolonkarzinomzellen überexprimiert wird (Xie et al. 1999). FGF-19 wird besonders stark im Darm exprimiert (Kharitonov 2009). FGF-19 wird vom Ileum sezerniert und ist somit ein Enterokin (Kir et al. 2011). Das FGF-19-Gen kodiert ein Peptid, das aus 216 Aminosäuren besteht und ein Signalpeptid von 22 Aminosäuren umfasst (Fukamoto 2008). FGF-15 besteht aus 218 Aminosäuren

(Nishimura et al. 1999). FGF-19 und FGF-15 sind Orthologe in Wirbeltieren, wobei die Aminosäureübereinstimmung zwischen Maus und Mensch 51% beträgt. Das murine Ortholog wurde FGF-15 benannt, die Orthologe in anderen Wirbeltieren werden als FGF-19 bezeichnet. FGF-15/19 wurde in allen Wirbeltieren, einschließlich in Knochenfischen, Amphibien, Reptilien, Vögeln und Säugetieren, identifiziert (Itoh 2010).

### **2.2.3 Funktionen von FGF-19 - Signalwege**

Im Gegensatz zu den klassischen FGFs, welche autokrin/parakrin wirken, besitzt FGF-19 eine endokrine Funktion und agiert somit als Hormon. Die Wirkung erfolgt an spezifischen Zielorganen (Kharitonov 2009, Kurosu und Kuro-o 2009). Nach der Nahrungsaufnahme werden Gallensäuren aus der Gallenblase ins Darmlumen sezerniert. Die Gallensäuren aktivieren den intestinalen Gallensalzrezeptor, Farnesoid X-Rezeptor (FXR), welcher die FGF-15/19 Genexpression induziert (Holt et al. 2003, Kurosu und Kuro-o 2009). Der FXR-Rezeptor hat hohe Affinität zu den Gallensäuren Cholsäure, Deoxycholsäure, Chenodeoxycholsäure (CDCA) und Lithocholsäure. Obeticholsäure, ein synthetischer FXR-Agonist, stimuliert die FGF-19-Expression 70-fach stärker als CDCA (Matsubara et al. 2013, Zhang et al. 2013). Die FGF-19-Expression erfolgt vor allem im terminalen Ileum. In einer aktuellen Studie berichten Reue und Kollegen (2015), dass das neu definierte Protein Diet1, welches primär in intestinalen Epithelzellen exprimiert wird, die FGF-19-Expression in den Enterozyten deutlich steigert. Nach der FGF-19-Expression zirkuliert der Ligand vom terminalen Ileum via Portalvene in die Leber (Abb. 5) (Beenken und Mohammadi 2009). Bei Erreichen der Leber aktiviert FGF-15/19 den FGF-Rezeptor 4 (FGFR4), welcher in erster Linie von Hepatozyten exprimiert wird (Inagaki et al. 2005, Kurosu und Kuro-o 2009). Die klassischen FGFs erfordern für eine effiziente FGFR-Bindung Heparin. FGF-19 besitzt keine Heparin-bindende Domäne und nutzt das Transmembranprotein  $\beta$ -Klotho als Kofaktor, um FGFR4 zu aktivieren (Kharitonov 2009). FGF-19 kann neben FGFR4 auch die Rezeptoren FGFR1c, 2c und 3c in Gegenwart des Kofaktors  $\beta$ -Klotho binden (Kuro-o 2012). FGF-15/19 besitzt vielfältige Funktionen im Fettsäuremetabolismus. Der Wachstumsfaktor reduziert die Acetyl-CoA-Carboxylase 2 (ACC2)-Aktivität und steigert somit die Fettsäureoxidation bzw. hemmt die Lipogenese. Der Ligand reprimiert auch das

lipogene Enzym Stearoyl-CoA-Desaturase 1 (SCD1) (Holt et al. 2003, Fu et al. 2004). Darüber hinaus aktiviert FGF-19 einen insulinunabhängigen endokrinen Signalweg, der die hepatische Glykogen- und Proteinsynthese reguliert (Kir et al. 2011). Abbildung 6 zeigt die Mechanismen der FGF-19-Signalübertragung sowie deren hepatische Antwort. FGF-15/19 reguliert weiterhin den Stoffwechsel der Gallensäuren in der Leber. Es gibt grundsätzlich zwei FXR-abhängige Mechanismen der Gallensäuren, wodurch die Gallensäuresynthese in der Leber gehemmt werden kann. Cholesterin-7 $\alpha$ -hydroxylase (CYP7A1) kodiert das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Gallensäuresynthese aus Cholesterin. Beim Menschen induziert der intestinale FXR die Freisetzung von FGF-19, welches über FGFR4 die Expression von CYP7A1 und somit die Gallensäuresynthese in der Leber hemmt (Abb. 7, 8), andererseits kann der hepatische FXR, welcher ebenfalls durch Gallensäuren aktiviert wird, den Orphan-Kernrezeptor SHP (Small Heterodimer Partner) induzieren, wodurch die CYP7A1-Expression reprimiert wird. Bei intrahepatischer Cholestase wird FGF-19 auch in der Leber exprimiert (Chiang 2009, Schaap et al. 2009, Abb. 8). Diese Reaktion dient der Leber als Schutz vor der toxischen Wirkung der Gallensäuren, da dann über den autokrinen FGF-19-FGFR4-Signalweg unter Anwesenheit des Kofaktors  $\beta$ -Klotho die Gallensäuresynthese unterdrückt wird. FGF-19 wirkt somit als postprandialer negativer Feedback-Regulator hinsichtlich der Gallensäuresynthese und -sekretion (Chiang 2009). Des Weiteren reguliert FGF-15/19 die Gallenblasenfüllung durch eine cAMP-abhängige Relaxation der glatten Muskulatur der Gallenblase (Choi et al. 2006).

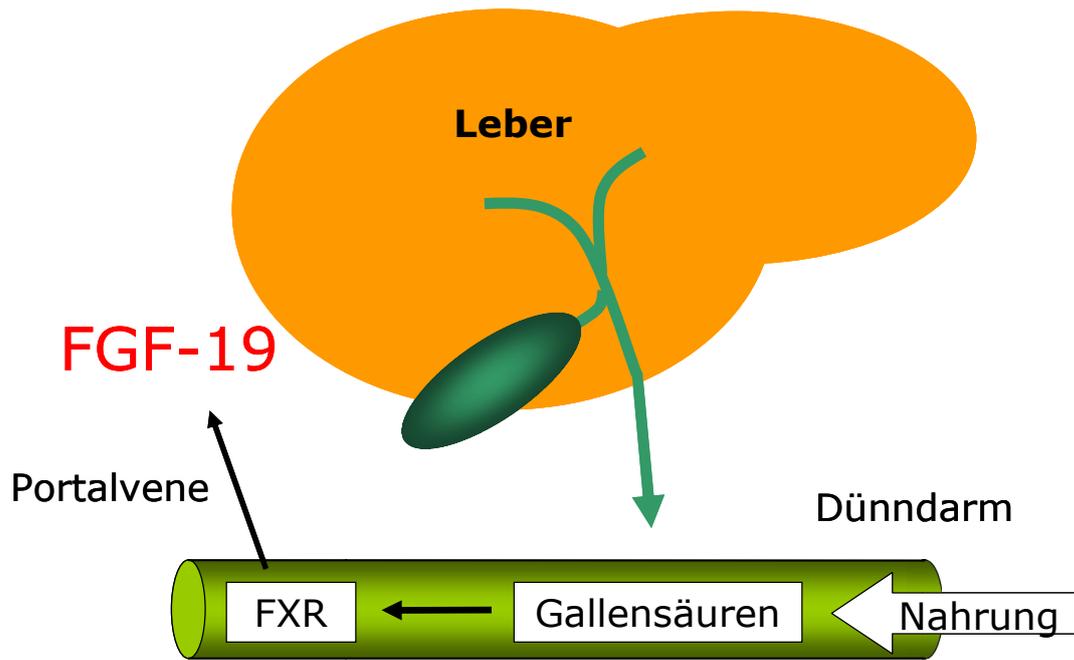


Abb. 5: FGF-19-Expression und -sekretion (nach P.L. Jansen).

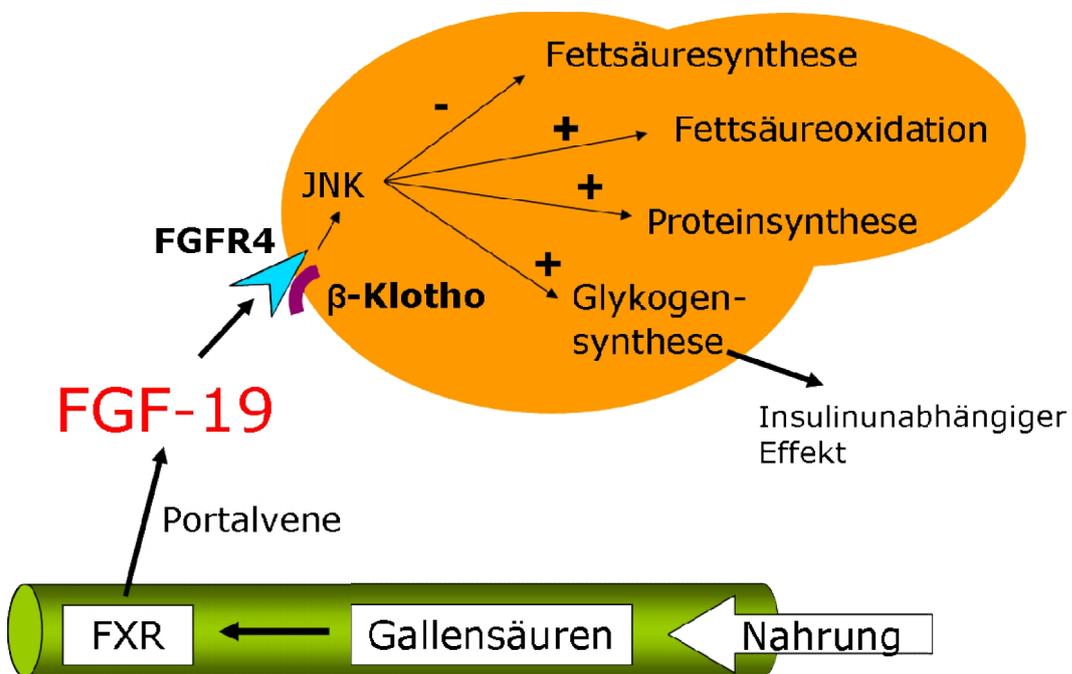


Abb. 6: Mechanismen der FGF-19-Signalübertragung und hepatische Antwort.

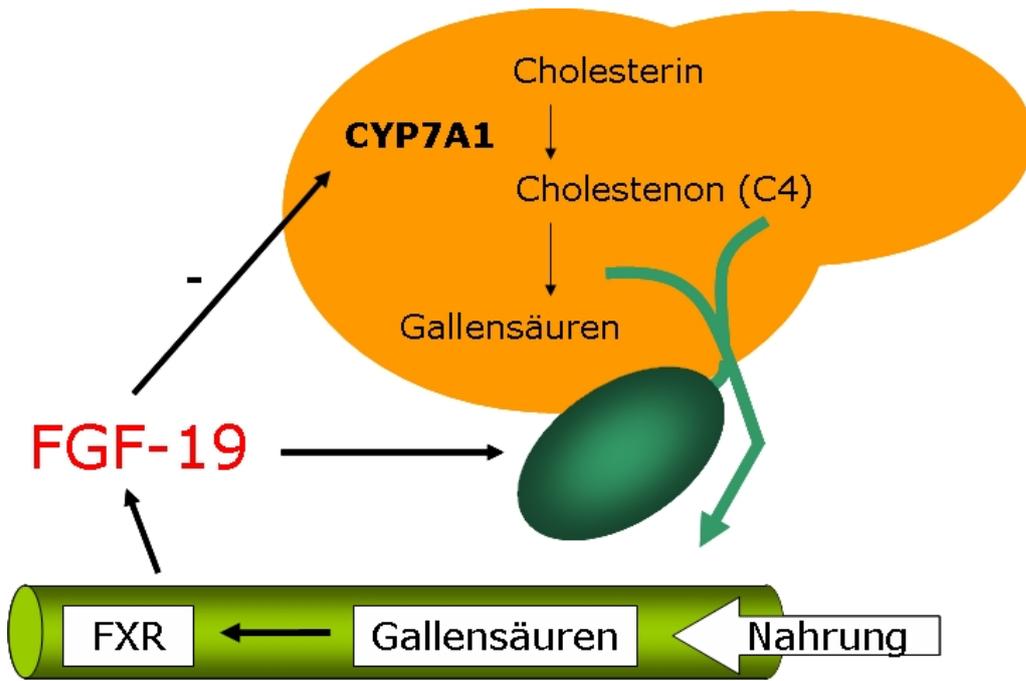
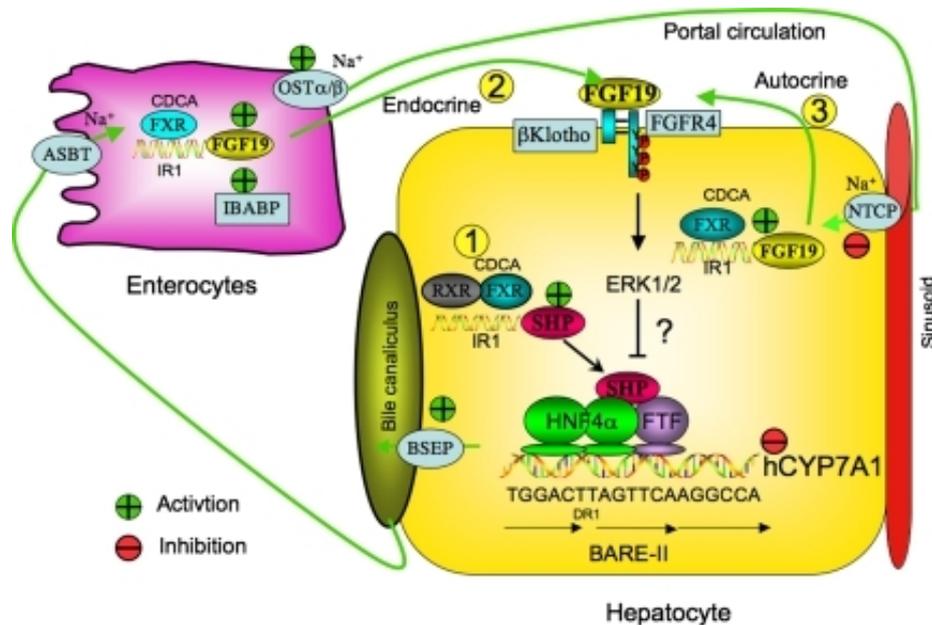


Abb. 7: Regulation der hepatischen Gallensäuresynthese durch FGF-19.



**Abb. 8: FXR-Regulationsmechanismen des enterohepatischen Kreislaufs der Gallensäuren.**

Signalweg 1: FXR-Aktivierung in der Leber durch Gallensäuren, Induktion der SHP-Expression, Inhibition der CYP7A1-Transkription. Signalweg 2: endokriner Signalweg - Aktivierung des intestinalen FXR durch Gallensäuren, Induktion der FGF-19-Expression, Zirkulation von FGF-19 zur Leber und Bindung an FGFR4. Signalweg 3: autokriner Signalweg - cholestatische Gallensäuren aktivieren hepatischen FXR und FGF-19/FGFR4-Signalweg, Inhibition der CYP7A1-Transkription (aus Chiang 2009).

#### 2.2.4 FGF-19 und metabolische Funktionen im Tiermodell

Die Maus ist ein weit verbreitetes Modell zur Untersuchung von Genfunktionen. FGF-19-transgene Mäuse sind gegenüber einer fettreichen Diät resistent. Diese Tiere entwickeln infolge eines erhöhten Energieverbrauchs und einer gesteigerten Fettsäureoxidation keine Adipositas und keinen Diabetes mellitus. FGF-19-transgene Mäuse weisen niedrigere Plasmaspiegel von Glucose, Triglyzeriden, Gesamtcholesterin, Insulin, Leptin und Glucagon auf. Darüber hinaus wurde ein geringerer Leberfettgehalt bei diesen Mäusen festgestellt (Tomlinson et al. 2002). Fu et al. (2004) berichten, dass die Gabe von rekombinantem FGF-19 bei Mäusen die Stoffwechselrate steigert. Darüber hinaus wurde durch die Behandlung mit FGF-19 eine experimentell erzeugte diabetische Stoffwechsellaage verbessert. Im Gegensatz dazu berichten Wu und Kollegen (2013), dass die Gabe von rekombinantem FGF-19 bei Leptin-defizienten Mäusen und Mäusen, die eine fettreiche Diät erhielten

(C57BL6/9-Mausstamm), zu einem Anstieg der Triglyzeridserumspiegel führte. Des Weiteren wurde bei FGF-15-Knockout-Mäusen eine erhöhte fäkale Gallensäureausscheidung festgestellt (Itoh 2010).

Kir et al. berichten (2011), dass FGF-19 die hepatische Protein- und Glykogensynthese stimuliert (Abb. 6). Die Auswirkungen von FGF-19 sind insulinunabhängig. Sie werden stattdessen durch einen Mitogen-aktivierten Protein-Kinase- (MAPK) Signalweg vermittelt. Mäuse ohne FGF-15 können die Blutglucosekonzentration und normale postprandiale Mengen an Leberglykogen nicht aufrechterhalten. Eine Behandlung mit FGF-19 bei diabetischen Tieren stellt den Glykogenverlust wieder her. FGF-19 aktiviert somit einen physiologisch wichtigen, insulinunabhängigen endokrinen Signalweg, welcher den hepatischen Protein- und Glykogenmetabolismus reguliert. Weiterhin scheint FGF-19 eine bedeutende Rolle in der Onkogenese zu spielen. FGF-19-transgene Mäuse entwickeln hepatozelluläre Karzinome (Nicholes et al. 2002). Sawey et al. (2011) berichten, dass FGF-19 ein Onkogen ist und beim hepatozellulären Karzinom (HCC) überexprimiert wird. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass monoklonale Antikörper gegen FGF-19 das Wachstum von Kolontumor-Xenotransplantaten *in vivo* hemmen und hepatozelluläre Tumore in FGF-19-transgenen Mäusen verhindern (Desnoyers et al. 2008). Demgegenüber wurde in einer aktuellen Untersuchung an FGF-15-Knockout-Mäusen nachgewiesen, dass ein FGF-15-Mangel die Lebergeneration nach einer 2/3 Teilhepatektomie beeinträchtigt (Kong et al. 2014).

## **2.2.5 FGF-19 und metabolische Wirkungen im Menschen**

### **2.2.5.1 Regulation des Gallensäurestoffwechsels**

Lundåsen et al. (2006) zeigen in einer Studie, dass FGF-19 eine wichtige Rolle in der Regulation des Cholesterin- und Gallensäurestoffwechsels beim Menschen spielt. Die basalen FGF-19-Serumspiegel variieren um das Zehn- bis Vierzigfache bei Gesunden (Lundåsen et al. 2006, Schmid et al. 2015). Die FGF-19-Spiegel weisen einen Tagesrhythmus auf und erreichen 90-120 Minuten nach dem postprandialen Anstieg der Serumgallensäuren das Maximum (Abb. 9). Zudem korrelieren die FGF-19-Konzentrationen mit den C4-Spiegeln (7 $\alpha$ -hydroxy-4-cholesten-3-on), welche ein

Marker für die Gallensäuresynthese der Leber sind. FGF-19 supprimiert die hepatische Gallensäuresynthese, was wiederum zu niedrigen C4-Spiegeln führt. Durch Gabe von Gallensäuren oder Gallensäurebindern wird der enterohepatische Kreislauf verändert. Die Einnahme des Gallensäurebinders Cholestyramin bewirkt eine verminderte intestinale FGF-19-Sekretion und einen Anstieg der C4-Konzentrationen (Abb. 10 a, c). Demgegenüber bewirkt die Verabreichung von Gallensäuren wie Chenodeoxycholsäure (CDCA) eine gesteigerte FGF-19-Freisetzung und verringerte C4-Spiegel (Abb. 10 b, d).

FGF-19 wird hochgradig in der humanen Gallenblase exprimiert, wobei die physiologische Bedeutung des biliären FGF-19 unbekannt ist. Kürzlich berichten Barrera und Kollegen (2015), dass die FGF-19-mRNA-Spiegel in humanen Cholangiozyten ca. 250-fach höher sind im Vergleich zu den Spiegeln im distalen Ileum. Die Gallenblasengalle enthält ca. 20-fach höhere FGF-19-Konzentrationen im Vergleich zum Serum. Anschließend untersuchten die Autoren die Auswirkungen einer Cholezystektomie auf die Gallensäuresynthese und FGF-19-Serumspiegel. Die Cholezystektomie steigerte zwei Wochen postoperativ die Gallensäureplasmasynthese um  $\geq 2$ -fache ( $p < 0,0001$ ). Drei Monate nach Cholezystektomie waren die FGF-19-Serumspiegel mittags signifikant gesunken.

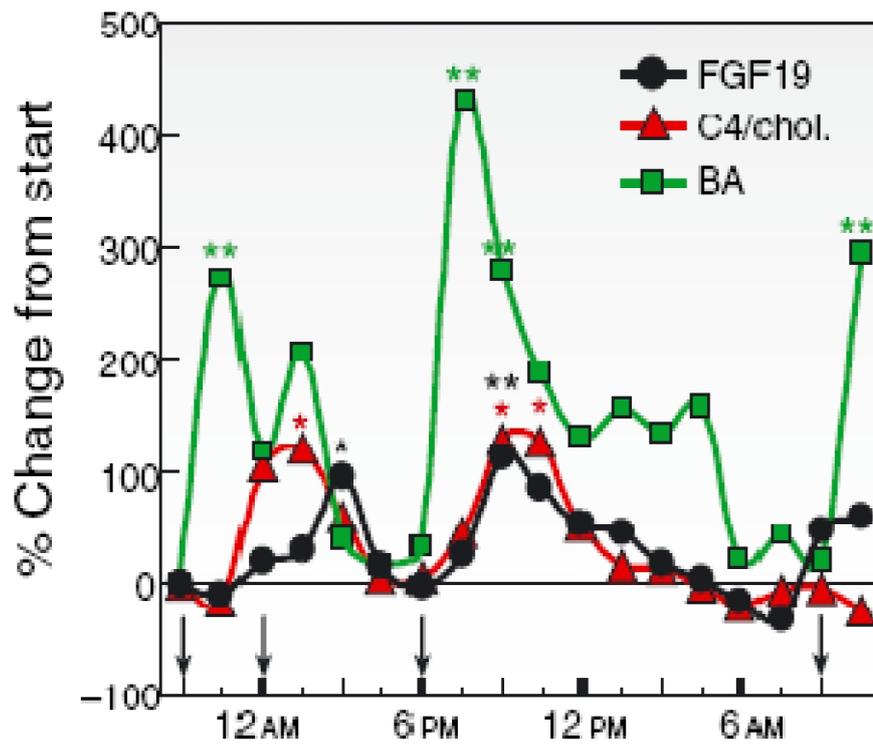
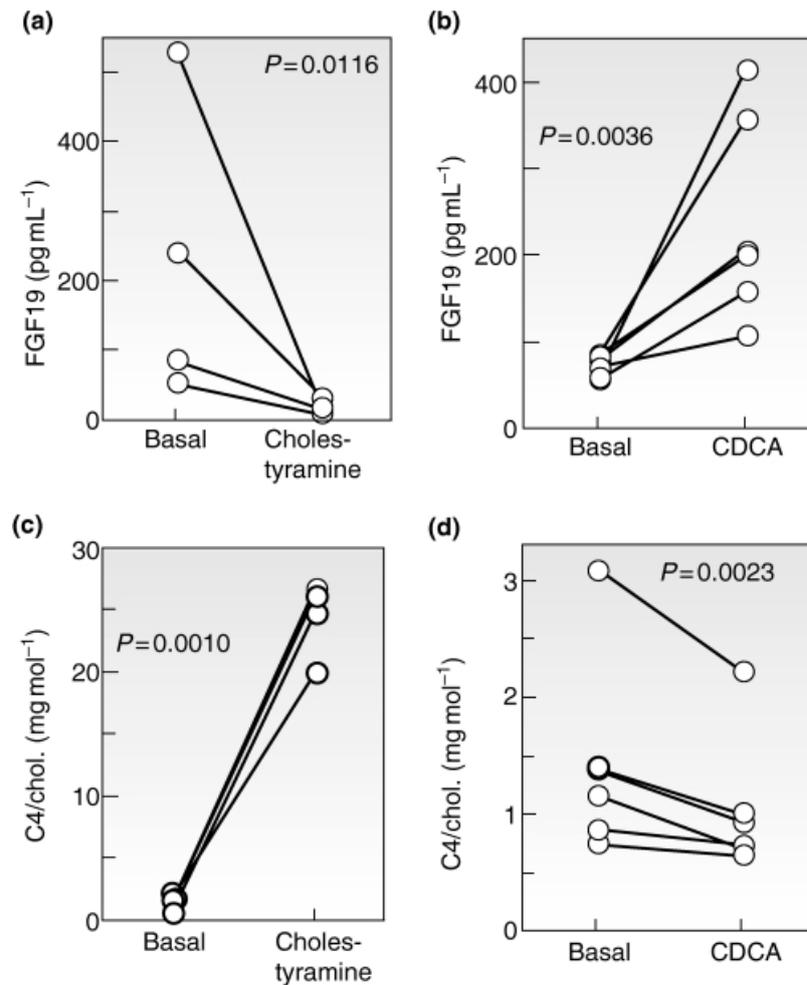


Abb. 9: Zirkadianer Rhythmus von FGF-19-, Gallensäure- (BA) und C4-Konzentrationen (aus Lundåsen et al. 2006).



**Abb. 10: Effekte der Behandlung mit Cholestyramin und Chenodeoxycholsäure (CDCA) auf FGF-19-Serumspiegel und Gallensäuresynthese (C4/Cholesterin).**

- a) Cholestyramin bewirkt eine verminderte intestinale FGF-19-Sekretion,
- b) Chenodeoxycholsäure (CDCA) bewirkt eine gesteigerte FGF-19-Sekretion,
- c) Cholestyramin bewirkt einen Anstieg der C4-Konzentrationen,
- d) Chenodeoxycholsäure (CDCA) bewirkt einen Abfall der C4-Konzentrationen (aus Lundåsen et al. 2006).

### 2.2.5.2 FGF-19 bei Lebererkrankungen

Eine Arbeitsgruppe in Amsterdam untersuchte die Sekretion von FGF-19 bei Patienten mit NAFLD. Schreuder et al. (2010) berichten über eine normale intestinale FGF-19-Produktion bei NAFLD-Patienten. Die Nüchtern-FGF-19-Spiegel sind zwischen Gesunden und adipösen NAFLD-Patienten vergleichbar. Auffallend ist, dass nach standardisierter oraler Fettbelastung die hepatische Antwort auf FGF-19 bei NAFLD-Patienten mit Insulinresistenz beeinträchtigt ist. Die Autoren schlussfolgern, dass FGF-19 möglicherweise zur Fehlsteuerung des Fettstoffwechsels beiträgt. Eine polnische Arbeitsgruppe stellt fest, dass adipöse Jugendliche mit einer NAFLD signifikant geringere Nüchtern-FGF-19-Serumspiegel aufweisen im Vergleich zu adipösen Jugendlichen ohne eine NAFLD (Wojcik et al. 2012). Untersuchungen an Kindern mit Biopsie-gesicherter NAFLD ergaben eine inverse Assoziation zwischen den FGF-19-Spiegeln, der hepatischen  $\beta$ -Klotho-Expression und dem Schweregrad der Fettleber (Alisi et al. 2013). Wunsch und Kollegen (2015) untersuchten die hepatische FGF-19-Expression bei Patienten mit Primärer biliärer Cholangitis (PBC), einer Autoimmunerkrankung der Leber, welche die kleinen intrahepatischen Gallengänge betrifft und zur hepatozellulären Akkumulation von Gallensalzen führt. Die Autoren berichten über eine erhöhte hepatische FGF-19-mRNA-Expression, welche zudem mit dem Schweregrad der Erkrankung korreliert. Im Vergleich zum Kontrollgewebe ist die FGF-19-mRNA-Expression in nicht-zirrhosischen Gewebe um das 9-fache und in zirrhosischem Gewebe um fast das 70-fache gesteigert. Bei den PBC-Patienten mit Leberzirrhose sind die Proteinspiegel von FGF-19, FGFR4, FXR und SHP in der Leber im Vergleich zu den Kontrollen signifikant erhöht, was mit einer Reduktion der CYP7A1-Expression (Schlüsselenzym der Gallensäuresynthese) unter intrahepatischen cholestatischen Bedingungen um 50% assoziiert ist. Des Weiteren verweisen die Autoren auf eine positive Korrelation zwischen der FGF-19-mRNA-Expression und den Cholestaseparametern AP und Bilirubin.

### 2.2.5.3 FGF-19 und Ernährungszustand

Viele Arbeiten beschäftigen sich mit dem Einfluss des Ernährungszustandes auf die FGF-19- Spiegel im Blut. Die Plasma-FGF-19-Spiegel bei Patienten mit Anorexia nervosa unterscheiden sich nicht von gesunden Kontrollen (Dostálová et al. 2008). Ebenso zeigt eine tschechische Arbeitsgruppe, dass sich die Nüchtern-Plasma-FGF-19-Konzentrationen zwischen schlanken Kontrollen, Adipösen und Patienten mit Cushing-Syndrom nicht unterscheiden (Durovcová et al. 2010). Eine anderes tschechisches Forscherteam kommt zu dem Ergebnis, dass Patienten mit metabolischem Syndrom um 65% niedrigere Nüchtern-FGF-19-Serumspiegel aufweisen als Gesunde. Zudem korrelieren die FGF-19-Konzentrationen negativ mit Faktoren des metabolischen Syndroms, so dass FGF-19 ein neuer Prädiktor für dieses Krankheitsbild sein könnte (Stejskal et al. 2008). Aktuell berichten Gallego-Escuredo et al. (2015) über signifikant geringere FGF-19-Serumspiegel bei Adipösen im Vergleich zu Kontrollen ( $p < 0,001$ ). In der gesamten Studienpopulation reichen die FGF-19-Serumspiegel von 29 bis 427 pg/ml.

Fang et al. (2013) stellen fest, dass die Nüchtern-FGF-19-Serumspiegel bei chinesischen Probanden mit Prädiabetes und Diabetes mellitus Typ 2 signifikant geringer sind als bei den Kontrollen mit normaler Glucosetoleranz. Des Weiteren verweisen die Autoren auf eine negative Assoziation zwischen den Nüchtern-FGF-19-Serumspiegeln und den Nüchtern-Glucose-Werten. Kürzlich untersuchten auch Roesch et al. (2015) die Nüchtern-FGF-19-Serumspiegel in einer Kohorte von Patienten mit Adipositas Grad III. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass adipöse Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 signifikant geringere FGF-19-Spiegel aufzeigen im Vergleich zu adipösen Probanden ohne Diabetes mellitus. Interessanterweise publizierte im gleichen Jahr ein amerikanisches Forscherteam, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, die sich einer Roux-en-Y-Magenbypass Operation unterzogen, die Nüchtern-FGF-19-Spiegel nach einem Jahr signifikant ansteigen (Sachdev et al. 2015).

#### 2.2.5.4 FGF-19 und Darmfunktionsstörungen

Derzeitige Studien beschäftigen sich insbesondere mit den Folgen einer funktionsgestörten intestinalen FXR-FGF-19- bzw. Darm-Leber-Achse. Die Pathogenese von Lebererkrankungen, die mit Darmfunktionsstörungen assoziiert sind, ist bisher unklar. Kürzlich untersuchten deshalb Mutanen und Mitarbeiter (2015) die FGF-19-Serumspiegel und Leber (Biopsie) bei pädiatrischen Patienten mit Darmversagen aufgrund von Erkrankungen wie Kurzdarmsyndrom, Morbus Hirschsprung und chronisch intestinaler Pseudoobstruktion (CIPO). Die Autoren weisen bei den Patienten mit einem Darmversagen signifikant geringere FGF-19-Konzentrationen im Vergleich zu den gesunden Kontrollen auf (Median 44 vs. 119 pg/ml,  $p < 0,001$ ). Die Hormonspiegel sind noch mehr verringert bei den Patienten ohne Restileum im Vergleich zu den Probanden mit teilweise oder ganz erhaltenem Ileum (Median 37 vs. 74 pg/ml,  $p=0,03$ ) und korrelieren mit der Restileumlänge. Die Leberbiopsie ergab bei 62% der Probanden eine Fibrose, bei 46% eine Steatose, bei 18% eine portale Inflammation und bei 13% der Patienten eine Cholestase. Patienten mit Fibrose (Metavir Stadium  $\geq 1$ ) haben signifikant geringere FGF-19-Serumspiegel als Patienten ohne Fibrose (Median 35 vs. 99 pg/ml,  $p= 0,01$ ). Zudem korrelieren die FGF-19-Spiegel negativ mit dem Metavir Fibrorestadium. Bei Patienten mit und ohne Cholestase oder Steatose unterscheiden sich die FGF-19-Spiegel nicht. Im gleichen Jahr verglichen Nolan und Mitarbeiter (2015) die Nüchtern-FGF-19-Spiegel bei Morbus Crohn (MC) Patienten, die bisher keine Ileumresektion hatten, in der Schub- (aktive Krankheitsphase) und Remissionsphase. Die FGF-19-Spiegel sind geringer bei den MC-Patienten mit aktiver Erkrankung im Vergleich zu den Remission-Patienten. Bei MC-Probanden mit Ileumresektion besteht eine inverse Korrelation der FGF-19-Spiegel mit der Resektionslänge, d.h. je mehr Ileum reseziert ist, desto niedriger sind die FGF-19-Werte. Shimizu und Kollegen (2015) untersuchten die Effekte von oxidativem Stress auf die FGF-19-Expression in humanen Darmepithelzellen (Caco-2 Zellen) und auf die FGF-15-Expression in Mäusen. Die Zellen wurden mit Arsenit kultiviert und den Mäusen wurde Arsenit oral verabreicht, um oxidativen Stress auszulösen. Oxidativer Stress induzierte nur *in vitro* (Caco-2 Zellen) im endoplasmatischen Retikulum Stress (ER-Stress) und die Expression des Transkriptionsfaktors ATF4, welcher wiederum die FGF-19-Expression steigerte.

## **2.2.6 FGF-19 und diagnostische Relevanz beim Menschen**

Pattni und Kollegen (2012) beurteilen den diagnostischen Wert von FGF-19 in einer prospektiven Studie bei Patienten mit chronischem Durchfall. Die Autoren teilten die Patienten in zwei Gruppen, Probanden mit normalen C4- ( $\leq 28$  mg/ml) und hohen C4-Werten ( $> 28$  mg/ml), ein. Alle Teilnehmer mit hohen C4-Werten sind durch gallensäurebedingtem Durchfall, unterschiedlicher Ursachen, gekennzeichnet. Die FGF-19-Serumspiegel sind signifikant höher in der Gruppe mit normalen C4- als in der Gruppe mit erhöhten C4-Werten. Die Forschergruppe verweist darauf, dass Patienten mit gallensäurebedingtem Durchfall aufgrund ilealer Resektion die geringsten FGF-19-Spiegel (Median 50 pg/ml) und höchsten C4-Werte haben (Median 117 ng/ml).

In einer aktuellen Fall-Kontrollstudie untersuchten Sanchis-Gomar und Kollegen (2015) die potenziellen Assoziationen von mehreren Biomarkern bei gesunden Hundertjährigen und gesunden Kontrollen (70-80 Jährige). Interessanterweise stellt die Forschergruppe fest, dass FGF-19, unabhängig vom Geschlecht, mit Gesundheit im Alter assoziiert ist.

## **2.2.7 FGF-19 und therapeutisches Potenzial**

FGF-15/19 wird während der embryonalen Entwicklung im Nervensystem, jedoch nicht im erwachsenen Gehirn, exprimiert. Demgegenüber ist der Kofaktor  $\beta$ -Klotho, den FGF-19 zur Bindung an die FGFRs nutzt, beim Erwachsenen im Hypothalamus vorhanden (Owen et al. 2015). Ryan und Mitarbeiter (2013) fanden heraus, dass der hepatische FGFR4-Rezeptor auch im Hypothalamus von Ratten exprimiert wird. Die Autoren berichten, dass eine geringe Gabe des ilealen Hormons FGF-19 ins Ventrikularsystem des Gehirns signifikante Veränderungen im peripheren Metabolismus auslöst. Die Gabe von FGF-19 ins Zentralnervensystem (ZNS) reduziert die 24-h-Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht bei normal-gefütterten/schlanken und Diät-induzierten fettleibigen Ratten und verbessert die Glucosetoleranz. Die Autoren verweisen darauf, dass die Blockierung der FGFRs durch die Gabe eines Hemmstoffs (Verbindung PD173074) ins ZNS die 24-h-Nahrungsaufnahme um 38% steigert und die Glucosetoleranz verschlechtert. Im gleichen Jahr untersuchten Hsuchou und Kollegen (2013) an Mäusen die

Auswirkungen einer intravenösen FGF-19-Bolus-Injektion in periphere Organe und einer intrazerebro-ventrikulären FGF-19-Injektion. Die Autoren kommen zu dem Ergebnis, dass FGF-19 die Blut-Hirn-Schranke passiert und ca. 10 Minuten stabil im Blut der Gehirnareale verbleibt.

In einer aktuellen Studie modifizierten Luo und Kollegen (2014) das FGF-19 Molekül, welches bei Überexpression auch eine tumorigene Wirkung aufweisen kann (Sawey et al. 2011), so, dass es nur noch die vorteilhaften Effekte von FGF-19 ausübt. Sie gaben dem neuen Molekül, bei dem fünf Aminosäuren entfernt und drei Aminosäuren an der N-terminalen Region ersetzt wurden, den Namen M70. Diese modifizierte FGF-19-Variante zeigt eine nicht-tumorigene Aktivität auf die Leber von Mäusen. M70 schützt Mäuse vor cholestatischen Leberschäden und unterdrückt wie FGF-19 die Gallensäuresynthese. Erstaunlicherweise wurde das M70-Protein kürzlich auch in einer Phase-I-Studie bei normalen freiwilligen Menschen validiert. Die Probanden erhielten eine subkutane Injektion von M70 oder einem Placebo (3 mg/Tag) über sieben Tage. M70 unterdrückt die C4-Spiegel um über 95%, folglich auch die Gallensäuresynthese, und dieser Effekt hält für 24 Stunden nach Dosisgabe an. Die Forschergruppe verweist darauf, dass es bei den Probanden unter M70-Injektion zu keinen unerwünschten Ereignissen oder Laborwertveränderungen kam (Walters et al. 2015).

### 3 Fragestellungen

Es wurden bereits mehrere metabolische Faktoren bei der Entwicklung der NAFLD untersucht. Hierzu zählen pathologische Zustände wie Insulinresistenz, Diabetes mellitus und Adipositas. Bisher gibt es nur wenige Studien, die die Bedeutung gastrointestinaler Hormone im Zusammenhang mit der Pathogenese der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung untersuchten. Aufgrund der hohen Prävalenz der NAFLD in westlichen Ländern und der Zunahme der Adipositas sowohl bei Erwachsenen als auch bei Kindern beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit der Rolle des gastrointestinalen Hormons Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) in der Pathogenese der NAFLD. Da die Prävalenz der NAFLD maßgeblich durch den Body Mass Index bestimmt wird, wurden für diese Untersuchung sowohl adipöse als auch übergewichtige Patienten rekrutiert, um die Bedeutung von FGF-19 bei beiden Gruppen getrennt beurteilen zu können.

**Folgende Fragestellungen sollten in der vorliegenden Arbeit beantwortet werden:**

1. Unterscheiden sich die Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen zwischen normalgewichtigen Gesunden, übergewichtigen und adipösen NAFLD-Patienten?
2. Wie wirkt sich eine oraler Fetttoleranztest (oFTT) auf die FGF-19-Serumspiegel aus, und gibt es Unterschiede zwischen normalgewichtigen Gesunden, übergewichtigen und adipösen NAFLD-Patienten?
3. Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Ernährungsverhalten der Probanden und den FGF-19-Serumkonzentrationen?
4. Bestehen Korrelationen zwischen der Körperzusammensetzung der Probanden und den FGF-19-Spiegeln im Serum?
5. Welche Rolle spielt das gastrointestinale Hormon FGF-19 in der Pathogenese der NAFLD beim Menschen?

## **4 Probanden und Methoden**

### **4.1 Genehmigung der Studie**

Die vorliegende Studie wurde von der Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes geprüft (Kenn-Nr. 58/09) und am 28.04.2009 befürwortet. Das Projekt wurde am Universitätsklinikum des Saarlandes in der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin II durchgeführt. Es handelt sich um eine nicht randomisierte Kontrollstudie.

### **4.2 Probandenauswahl**

Die Probanden wurden in den Jahren 2009 und 2010 in der hepatologischen und endokrinologischen Sprechstunde der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin II rekrutiert. Als Kontrollgruppe wurden gesunde, normalgewichtige Probanden hinzugezogen. Bei den übergewichtigen und adipösen NAFLD-Patienten wurden die Ein- und Ausschlusskriterien durch den jeweiligen behandelnden Ambulanzzarzt mittels Anamnese, Laborwerten und körperlicher Untersuchung überprüft. Darüber hinaus wurden bei der Probandenauswahl die letzten aktuellen Untersuchungsbefunde aus der Krankenakte berücksichtigt. Jeder Proband wurde mündlich und schriftlich über den Studienablauf und mögliche Risiken (Blutentnahmen) informiert.

### **4.3 Ein- und Ausschlusskriterien**

**Einschlusskriterien** waren:

- schriftliche Einverständniserklärung
- Alter: > 18 Jahre
- Kontrollen: gesund und normalgewichtige (BMI 19,0-25,4 kg/m<sup>2</sup>)
- übergewichtige Probanden (BMI 25,5-29,9 kg/m<sup>2</sup>) + NAFLD
- adipöse Probanden (BMI ≥ 30 kg/m<sup>2</sup>) + NAFLD
- Leberdiagnostik bei Übergewichtigen und Adipösen mittels Laborwerten, Ultraschall, FibroScan<sup>®</sup> und/oder Leberbiopsie

## **Ausschlusskriterien** waren:

- fehlende Einwilligung zur Studienteilnahme
- NAFLD-Probanden: erhöhter Alkoholkonsum in der ärztlichen Anamnese
- andere Ursachen einer akuten und chronischen Lebererkrankung:
  - Hepatitis A Virus (HAV)
  - Hepatitis B Virus (HBV)
  - Hepatitis C Virus (HCV)
  - Hepatitis D Virus (HDV)
  - Cytomegalie Virus (CMV)
  - Epstein-Barr Virus (EBV)
  - Hämochromatose
  - Morbus Wilson
  - $\alpha$ 1-Antitrypsinmangel
  - Autoimmunhepatitis

## **4.4 Methoden**

Die Leberdiagnostik erfolgte bei den übergewichtigen und adipösen Patienten mittels Laborwerten, Ultraschall, FibroScan<sup>®</sup> und/oder Leberbiopsie. Anschließend wurde mit jedem Probanden individuell nach dem Aufklärungsgespräch und der Unterzeichnung der Einwilligungserklärung ein Tag für die Studienteilnahme vereinbart. Beginn der Untersuchung war jeweils 8 Uhr. Des Weiteren wurde jeder Teilnehmer gebeten, vorab ein 3-Tage-Ernährungsprotokoll zu führen. Am Vortag des Studientages sollten die Probanden ab 22 Uhr nüchtern bleiben. Zuerst wurden bei jedem Probanden Körpergröße und -gewicht ermittelt, woraufhin die Messung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) durchgeführt wurde. Anschließend folgten die ersten Blutentnahmen und dann die Einnahme des Testdrinks Calogen<sup>®</sup> und zusätzlich ein halber Liter Mineralwasser. Zwei, 4 und 6 Stunden nach oraler Fettbelastung folgten weitere Blutentnahmen. Die Probanden durften bis zur letzten Blutentnahme keine Nahrung und keine kalorienhaltigen Getränke zu sich nehmen.

## **4.4.1 Leberdiagnostik**

### **4.4.1.1 Ultraschall der Leber**

Die Leber der übergewichtigen und adipösen Patienten wurde mittels Ultraschall untersucht (Hitachi EUB-8500 Ultrasound Scanner, Hitachi Medical Systems). Aus der intrazellulären Akkumulation von Fett resultiert eine erhöhte Reflexion des Lebergewebes (Schwenzer et al. 2009). Eine Fettleber wird daher im Ultraschall durch die Erhöhung der Echogenität sichtbar. Bei unseren Patienten wurde ein in der klinischen Praxis verbreitete Drei-Punkte-Skala angewandt, welches die Leber optisch in den entsprechenden Verfettungsgrad I (leicht), II (mittel) oder III (schwer) einstuft. Der Untersucher vergleicht dabei die Diskrepanz der Echoamplituden zwischen Leber- und Nierengewebe und beurteilt die Echogenität der Pfortader. Eine leichte Leberverfettung bedingt einen geringen Anstieg der Leberechogenität und eine leichte Diskrepanz zwischen Leber- und Nierenechogenität bei erhaltenem Pfortaderecho. Eine moderate Leberverfettung führt zu einem Verlust der Echos von der Pfortader, insbesondere der peripheren Verzweigungen, einem strukturlosen Leberbild und einer größeren Diskrepanz zwischen Leber- und Nierenechogenität. Die schwere Verfettung geht mit dem Verlust der Echogenität der Pfortader einher und führt zu einem großen Unterschied der Echogenität von Leber- und Nierengewebe (Saverymuttu et al. 1986).

### **4.4.1.2 Transiente Elastographie (FibroScan®)**

Zur Beurteilung des Leberfibrosestadiums wurde das Prinzip der transienten Elastographie angewandt, welches ein nicht invasives Verfahren darstellt. Hierfür wurde bei unseren Patienten der FibroScan® eingesetzt. Dieses Gerät dient der Messung der Lebersteifheit und besteht aus einem Ultraschallkopf mit Vibrationsgenerator (FibroScan® 502 Touch, Firma Echosens, Paris). Bei der Messung wird mit dem Schallkopf durch den rechten Interkostalraum eine Vibration auf das Lebergewebe übertragen. Dadurch wird eine Welle erzeugt, deren Ausbreitungsgeschwindigkeit in der Leber mittels Ultraschallsignalen vermessen wird. In die Berechnung der Steifheit des Lebergewebes in kPa werden die Ausbreitungsgeschwindigkeit ( $V$ ) und die Dichte der Leber ( $\rho$ ) einbezogen. Je

schneller sich die Welle in der Leber ausbreitet, desto höher ist die Lebersteifigkeit (Friedrich-Rust und Zeuzem 2007). Die Messung sollte 8 bis 10 Mal mit einer Erfolgsrate von 60% durchgeführt werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten (Afdhal 2012).

Messwerte unter 6 kPa gelten als normal (Roulot et al. 2008). Eine signifikante Fibrose wird bei Cut-off-Werten von 7,1 und 7,8 kPa angegeben. Bei Messwerten von 9,5 und 10,8 kPa wird die Diagnose einer fortgeschrittenen Fibrose vorgeschlagen (Castéra et al. 2005, Arena et al. 2008). Der optimale Cut-off-Wert für eine Leberzirrhose wurde ab  $\geq 13,0$  kPa definiert (Friedrich-Rust et al. 2008).

## **4.4.2 Ernährungsstatus**

### **4.4.2.1 Ernährungsprotokoll**

Die Probanden wurden gebeten, ihre Nahrungs- und Flüssigkeitszufuhr an einem Sonntag und zwei Arbeitstagen zu dokumentieren. Ein Sonntag wurde gewählt, da sich die Ernährungsgewohnheiten am Wochenende häufig von dem Essverhalten während der Woche, speziell bei Berufstätigen und Familien, unterscheiden. Die Portionsmengen der verzehrten Lebensmittel sollten entweder mittels einer Küchenwaage erfasst oder visuell abgeschätzt werden. Hierbei konnten Maßeinheiten wie z.B. Teelöffel, Esslöffel, Suppenkelle, klein, mittel oder groß bei der Dokumentation verwendet werden. Die Studienteilnehmer sollten weiterhin ihre Flüssigkeitszufuhr notieren und das 3-Tage-Ernährungsprotokoll am Untersuchungstag mitbringen. Aus dem Lebensmittelverzehr und der Flüssigkeitszufuhr wurden die Energie- und Nährstoffaufnahme unter Verwendung der Software EBISpro<sup>®</sup>, Version 8.0 (Erhardt, Universität Hohenheim), berechnet. Dieser Ernährungssoftware sind die D-A-CH-Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr und die Lebensmitteldatenbank des Bundeslebensmittelschlüssels (BLS Version II.3) zugrunde gelegt. Jeder Proband erhielt nach Abschluss der Untersuchung eine schriftliche Auswertung des 3-Tage-Ernährungsprotokolls.

#### 4.4.2.2 Body Mass Index (BMI)

Um den Body Mass Index berechnen zu können, wurden bei jedem Probanden Körpergröße und -gewicht ermittelt. Die Körpergröße wurde bei den Teilnehmern im aufrechten Stehen und ohne Schuhwerk erfasst. Mittels einer digitalen Personenwaage wurde das Körpergewicht ermittelt. Die Probanden wurden in Anlehnung an die Gewichtsklassifikationen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) und der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als normalgewichtig, übergewichtig oder adipös eingestuft (Tab. 1).

**Tab. 1: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen** (nach DGE 1992, WHO 2000)

<b>Gewichtsklasse</b>	<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>
Normalgewicht	19,0 - 25,4
Übergewicht	25,5 - 29,9
Adipositas Grad I	30,0 - 34,9
Adipositas Grad II	35,0 - 39,9
Adipositas Grad III	≥ 40,0

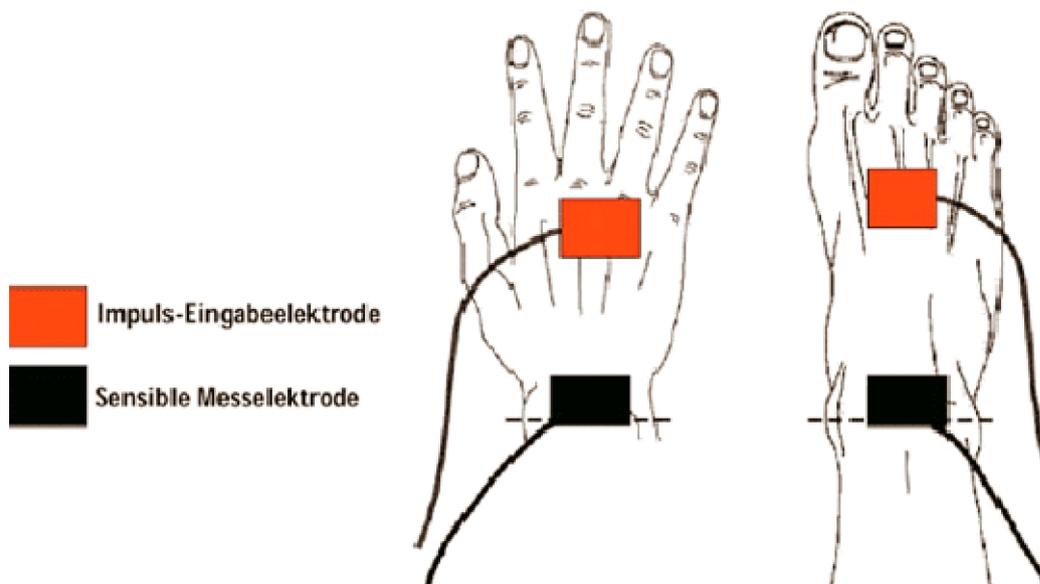
#### 4.4.2.3 Messung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA)

Die Körperzusammensetzung lässt sich anhand des Drei-Komponenten-Modells in Fettmasse, Magermasse und Wasser einteilen. Körperzellmasse und extrazelluläre Masse bilden zusammen die Magermasse. Die Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) ist eine anerkannte und häufig verwendete Methode, die zur Erfassung der Körperzusammensetzung und somit des Ernährungszustandes eingesetzt wird. Sie zählt zu den doppelt indirekten Methoden, da die Messwerte für weitere Berechnungen mit empirischen Standardgleichungen benutzt werden. Verschiedene BIA-Geräte stehen hierbei zur Verfügung (Biesalski et al. 2004). Die BIA ist nicht invasiv, kostengünstig, mobil und schnell durchführbar (Pirlich et al. 2000). Die BIA

wird primär zur Erfassung der Körperzusammensetzung bei Gesunden und Kranken, aber auch als prognostischer Faktor für das Überleben bei Tumorpatienten eingesetzt (Paiva et al. 2010, Filipovic et al. 2011, Heydari et al. 2011). Mit zunehmender Adipositas-Prävalenz hat auch der Einsatz von BIA-Messungen zur Bestimmung des Körperfettgehaltes zugenommen (Ricciardi und Talbot 2007).

Die BIA beruht auf der Messung des elektrischen Widerstandes, den ein Körper einem schwachen elektrischen Wechselstrom entgegensetzt (Pirlich et al. 2003). Hierfür werden zwei Hautelektroden an Hand und Fuß platziert. Der elektrische Strom wird, nach Anlegen einer Spannung, durch die im Körperwasser gelösten Elektrolyte geleitet. Die Gesamtimpedanz  $Z$  ist der komplexe elektrische Widerstand, den der Körper dem Wechselstrom entgegensetzt. Die Fettmasse setzt dem Wechselstrom einen hohen Widerstand entgegen. Das fettfreie Gewebe, welches reich an Körperflüssigkeiten und Elektrolyten ist, verhält sich dagegen wie ein guter elektrischer Leiter. Es setzt dem Wechselstrom einen niedrigen Widerstand entgegen (ohmscher Widerstand=Resistance  $R_z$ ). Stoffwechselaktive Zellen wirken im Wechselstromfeld als Kondensatoren, die dem Strom kapazitiven Widerstand (Reactance  $X_c$ ) entgegensetzen (Akern 2012).

Die Messungen der Bioelektrischen Impedanz wurden mit einem tragbaren BIA-Gerät bei einer Frequenz von 50 kHz durchgeführt (QUANTUM/S, Akern Srl, Florenz, Italien). Hierbei mussten die Probanden nüchtern sein und sich mit dem Rücken auf eine Untersuchungsfläche legen. Auf der dominanten Körperseite des jeweiligen Probanden wurden auf dem Hand- und Fußrücken je zwei selbstklebende Hautelektroden (BIAphaser-Tabs Einweg Elektroden, MEDICAL Health Care GmbH, Karlsruhe) befestigt. Die richtige Platzierung der Elektroden ist in Abbildung 11 dargestellt. Fettfreie Masse (FFM), extrazelluläre- (ECM) und Muskelmasse (BCM), Fettmasse (FM) sowie Gesamtkörperwasser (TBW) konnten anschließend mit der gemessenen Reactance und Resistance mittels der Software Body Comp Version 7.0 berechnet werden (MEDICAL Health Care GmbH, Karlsruhe).



**Abb. 11: Elektrodenplatzierung bei der BIA-Messung** (MEDICAL Health Care GmbH 2012).

#### 4.4.3 Orale Fetttoleranztest (oFTT)

Orale Fetttoleranztests können zur Bestimmung der postprandialen Triglyzeridkonzentrationen eingesetzt werden, wobei kein etabliertes Standardverfahren existiert. Die eingesetzten Fettmengen, -quellen und postprandialen Messzeitpunkte variieren. Bei Gesunden wurde der 4-Stunden-Triglyzeridspiegel nach oraler Fettbelastung als repräsentativer Parameter vorgeschlagen (Mihás et al. 2011). Ziel dieser Studie war die Untersuchung einer körperrgewichtbezogenen Fettbelastung auf die postprandialen FGF-19- und Triglyzeridspiegel bei Patienten mit unterschiedlichem BMI und NAFLD. Für die vorliegende Studie wurde als Testdrink Calogen<sup>®</sup> (Nutricia GmbH, Erlangen) in den Geschmacksrichtungen Erdbeere oder Banane ausgewählt. Calogen<sup>®</sup> ist eine Fettemulsion auf der Basis von pflanzlichen Fetten und wird normalerweise als Zusatznahrung bei kachektischen Patienten, z.B. Tumorpatienten, eingesetzt. Jeder Proband wurde mit 1 g Fett pro kg Körpergewicht belastet. Calogen<sup>®</sup> besteht zu 50% aus langkettigen Triglyzeriden (LCT-Fett) (Tab.2). Beispielsweise erhielt ein 60 kg schwerer Proband 120 ml Calogen<sup>®</sup>.

**Tab. 2: Zusammensetzung Calogen® (Nutricia GmbH 2012)**

<b>Typanalyse</b>	<b>100 ml Calogen</b>
Physikalischer <b>Brennwert</b>	1850 kJ (450 kcal)
<b>Eiweiß</b>	0,0 g
<b>Kohlenhydrate</b>	0,0 g
<b>Fett (pflanzlich)</b>	50,0 g
<b>davon:</b>	
• Gesättigte Fettsäuren (GFS)	5,3 g
• Einfach ungesättigte Fettsäuren (EUFS)	30,4 g
• Mehrfach ungesättigte Fettsäuren (MUFS)	14,3 g
<b>Wasser</b>	46,0 g
<b>Mineralstoffe</b>	
• Natrium	7,0 g
• Chlorid	0,1 g

#### 4.4.4 Blutentnahmen und Blutverarbeitung

Bei jedem Probanden wurden nüchtern, 2, 4 und 6 Stunden nach oraler Fettbelastung zwei Serum-Röhrchen Blut aus der peripheren Vene durch Punktion bzw. aus einem peripheren Venenkatheter entnommen. Die Blutroben wurden nach 30 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute für 10 Minuten zentrifugiert (ROTANTA 46 R, Hettich Zentrifugen). Anschließend wurde das gewonnene Serum in Kryoröhrchen pipettiert und bei -70 °C bis zur Analyse eingefroren.

#### 4.4.5 Analyse metabolischer Basisparameter im Serum

Die Serumproben zur Bestimmung von Glucose, Cholesterin, HDL und Triglyzeriden wurden zur Analyse in das Zentrallabor des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin am Universitätsklinikum des Saarlandes verbracht. Das LDL-

Cholesterin wurde nach der Friedewaldformel berechnet (Friedewald et al. 1972). Die Messungen der FGF-19-Serumkonzentrationen erfolgten im Labor der Klinik für Innere Medizin II am Universitätsklinikum des Saarlandes.

#### **4.4.6 Bestimmung der FGF-19-Serumkonzentrationen**

Zur quantitativen Bestimmung der FGF-19-Konzentrationen im Serum wurde ein Sandwich Enzyme-linked Immunoassay (ELISA) eingesetzt. Die bei  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  tiefgefrorenen Serumproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut. Anschließend wurde das Serum jedes Kryoröhrchens mittel Vortexer (REAX 2000, Firma Heidolph) gut durchmischt. In der vorliegenden Studie wurde für die quantitativen Bestimmungen der FGF-19-Serumkonzentrationen ein ELISA der Firma R&D Systems verwendet (Quantikine<sup>®</sup>). Der monoklonale Antikörper, welcher spezifisch für FGF-19 ist (keine Angabe des Herstellers), ist hierbei an eine Mikroplatte gebunden. Zuerst wurden  $100\text{ }\mu\text{L}$  Assay Diluent RD1S und anschließend  $100\text{ }\mu\text{L}$  FGF-19 Standard- und Analyseproben in die Wells der Mikroplatte pipettiert. Das vorhandene FGF-19 wurde von dem an die Platte fixierten Antikörper gebunden. Nach zwei Stunden Inkubationszeit bei Raumtemperatur wurden die Flüssigkeiten aus den Wells mit einer Multipipette aspiriert. Anschließend wurden  $400\text{ }\mu\text{L}$  Waschpuffer mit einer Spritzflasche in jedes Well gegeben, danach der Waschpuffer abgekippt und die Platte auf Papiertüchern trocken geklopft. Der Waschprozess wurde insgesamt viermal durchgeführt, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen. Anschließend wurden  $200\text{ }\mu\text{L}$  Conjugate, ein für FGF-19 spezifischer Enzymgebundener polyklonaler Antikörper, in jedes Well hinzugegeben und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Durch weitere vier Waschvorgänge wurden alle ungebundenen Antikörper-Enzyme entfernt. Anschließend wurden  $200\text{ }\mu\text{L}$  einer Substratlösung in jedes Well pipettiert und die Platte für 30 Minuten unter Lichtausschluss inkubiert, wodurch es zu einem Farbumschlag von blau nach gelb kam. Durch Zugabe von  $50\text{ }\mu\text{L}$  Stopplösung pro Well wurde die Farbentwicklung unterbrochen. Danach wurde sofort die Messung der Farbintensität der Wells bei  $450\text{ nm}$  im Photometer (Sunrise<sup>TM</sup>, Tecan Deutschland GmbH) durchgeführt. Die Quantifizierung von FGF-19 erfolgte durch den Vergleich mit der Standardreihe.

#### 4.4.7 Statistische Auswertungen

Die Analyse der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS, Version 20.0 (SPSS IBM, Ehningen). Allen Tests wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  zugrunde gelegt. Da für die vorliegende Arbeit < 20 Probanden pro Gruppe rekrutiert wurden, waren keine Normalverteilungen zu erwarten (Chan 2003). Weil in diesem Studienkollektiv wenige Ausreißer bei den Messwerten vorlagen, wurden die quantitativen Daten als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SA) sowie Minimum und Maximum dargestellt.

Für den Vergleich mehrerer unabhängiger Stichproben wurde der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Statistische Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet.

Mittels der Spearman-Korrelationsanalyse wurden Zusammenhänge zwischen zwei Parametern erfasst. Die Stärke der Korrelation ist hierbei durch den Korrelationskoeffizient  $r$  und das Signifikanzniveau ( $p$ -Wert) charakterisiert. Hierbei zeigt ein Korrelationskoeffizient  $r \geq 0,8$  einen sehr starken, ein Wert von  $0,6 - 0,8$  einen mäßig starken, ein Koeffizient von  $0,3 - 0,5$  einen ausreichenden und  $r < 0,3$  einen schlechten Zusammenhang zwischen dem Parametern an (Chan 2003).

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Charakterisierung der Studiengruppen

Insgesamt nahmen 42 Probanden, 21 Frauen und 21 Männer, an der Studie teil. Das durchschnittliche Alter aller Studienteilnehmer beträgt  $43 \pm 14$  Jahre (Spanne 19 - 68 Jahre). Tabelle 3 stellt die Geschlechts- und Altersverteilungen in den drei Studiengruppen (Kontrollen, übergewichtige und adipöse NAFLD-Probanden) dar. Bei den übergewichtigen NAFLD-Probanden dominiert als Begleiterkrankung die Hypercholesterinämie. Arterielle Hypertonie, Hyperlipoproteinämie und Hyperurikämie sind die häufigsten Begleiterkrankungen der Adipösen (Tab. 4). Alle Teilnehmer der Kontrollgruppe nahmen zum Zeitpunkt der Studie nicht regelmäßig Medikamente ein. Bei den Übergewichtigen nahmen 3 von 14 und bei den Adipösen 8 von 12 Patienten Medikamente ein. Hierzu zählten Antidiabetika, Antihypertensiva, Schilddrüsenhormone, Analgetika, Ulkustherapeutika, Antidepressiva, nicht-steroidale Antirheumatika, Kortikoide und Gichtmittel.

**Tab. 3: Geschlechts- und Altersverteilungen der Probanden**

Parameter	gesunde Kontrollen	Übergewichtige + NAFLD	Adipöse + NAFLD
n (m/w)	16 (7/9)	14 (8/6)	12 (6/6)
Alter (Jahre $\pm$ SA)	$36,4 \pm 15,1$	$46,8 \pm 11,7$	$46,9 \pm 12,6$
Alter (Min - Max)	19,0 - 58,0	24,0 - 59,0	28,0 - 68,0

**Tab. 4: Prävalenz von Begleiterkrankungen bei Übergewichtigen und Adipösen**

<b>Diagnose</b>	<b>Übergewichtige + NAFLD (n=14)</b>	<b>Adipöse + NAFLD (n=12)</b>
Asthma bronchiale	-	2
Arterielle Hypertonie	-	<b>5</b>
COPD	-	1
Diabetes mellitus Typ 2	-	1
gestörte Glucosetoleranz	2	-
Hypercholesterinämie	<b>6</b>	2
Hyperlipoproteinämie (gemischt)	-	<b>3</b>
Hypertriglyzeridämie	1	1
Hyperurikämie	-	<b>3</b>
Hypothyreose	1	1
Refluxösophagitis	1	2
Schlafapnoe-Syndrom	-	2
Ullrich-Turner-Syndrom	1	-
keine	4	2

## **5.2 Leberdiagnostik**

Die Leberdiagnostik erfolgte bei den übergewichtigen und adipösen Patienten mittels Leberwerten, Ultraschall, transienter Elastographie (Fibroscan®) und/oder einer Biopsie. In beiden Patientengruppen reicht das Steatose-Spektrum vom Grad I, II und III bis zur NASH und Fibrose (Tab. 5, 6). Bei den Übergewichtigen dominieren NAFLD-Grad I, gefolgt von Grad II (Tab. 5). Bei einer übergewichtigen Patientin war der Ultraschall unauffällig, aber basierend auf erhöhten Leberenzymen erfolgte die Diagnose einer NASH. Bei den Adipösen findet sich überwiegend ein NAFLD-Grad II und III (Tab. 6). Bei einer Patientin wurde keine Fettleber im Ultraschall beschrieben, was vermutlich auf die Luftüberlagerung bei Adipositas zurückzuführen war.

**Tab. 5: NAFLD-Prävalenz nach Gradeinteilung und Diagnostikmethode bei Übergewichtigen**

Diagnose	n = 14	Ultraschall (m/w)	Leberenzyme (m/w)	Biopsie (m/w)	Fibroscan (m/w)
NAFLD Grad I	6	2 / 2	-	1 / 1	-
NAFLD Grad II	5	4 / 1	-	-	-
NAFLD Grad III	1	1 / 0	-	-	-
NASH	1	-	0 / 1	-	-
Fibrose Stadium II	1	-	-	-	0 / 1

**Tab. 6: NAFLD-Prävalenz nach Gradeinteilung und Diagnostikmethode bei Adipösen**

Diagnose	n = 11	Ultraschall (m/w)	Biopsie (m/w)	Fibroscan (m/w)
NAFLD Grad I	2	0 / 2	-	-
NAFLD Grad II	4	2 / 1	1 / 0	-
NAFLD Grad III	3	2 / 0	0 / 1	-
NASH	1	-	1 / 0	-
Fibrose Stadium I	1	-	-	0 / 1

## 5.3 Ernährungsstatus

### 5.3.1 Body Mass Index (BMI)

Der durchschnittliche BMI sowie Minimum und Maximum der einzelnen Studiengruppen sind in den Tabellen 7 bis 9 dargestellt. Die adipösen Patienten haben einen mittleren BMI von 36,7 kg/m<sup>2</sup>, welcher dem Adipositasgrad II nach WHO-Kriterien entspricht (Tab. 9). Der BMI unterscheidet sich signifikant zwischen allen drei Gruppen ( $p < 0,001$ ). Der BMI aller Probanden beträgt  $28,9 \pm 6,2$  kg/m<sup>2</sup> (BMI-Spanne 19,9 - 47,4 kg/m<sup>2</sup>).

**Tab. 7: BMI-Werte der gesunden Kontrollen (n=16)**

Parameter	Körpergröße (m)	Körpergewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
MW $\pm$ SA	1,69 $\pm$ 0,09	69,0 $\pm$ 10,36	24,0 $\pm$ 2,6
Min - Max	1,52 - 1,85	46,0 - 86,0	19,9 - 27,9

**Tab. 8: BMI-Werte der übergewichtigen NAFLD-Patienten (n=14)**

Parameter	Körpergröße (m)	Körpergewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
MW $\pm$ SA	1,69 $\pm$ 0,12	79,3 $\pm$ 10,8	27,7 $\pm$ 1,7
Min - Max	1,50 - 1,91	61,4 - 101,1	24,6 - 29,5

**Tab. 9: BMI-Werte der adipösen NAFLD-Patienten (n=12)**

Parameter	Körpergröße (m)	Körpergewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )
MW $\pm$ SA	1,69 $\pm$ 0,11	105,3 $\pm$ 21,9	36,7 $\pm$ 5,1
Min - Max	1,46 - 1,88	70,0 $\pm$ 153,6	30,6 - 47,4

### 5.3.2 Energie- und Nährstoffaufnahme

Insgesamt gaben 34 von 42 Studienteilnehmern (81%) ihr Ernährungsprotokoll zur Auswertung ab. Einen Überblick über die durchschnittliche Energie- und Nährstoffaufnahme der einzelnen Gruppen gibt Tabelle 10. Erstaunlicherweise besteht zwischen allen drei Gruppen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der durchschnittlichen Energiezufuhr pro Tag. Diese ist bei den Übergewichtigen mit  $1830 \pm 651$  kcal/Tag am geringsten und bei den Adipösen und Kontrollen fast identisch ( $2161 \pm 968$  vs.  $2107 \pm 533$  kcal/Tag). Ebenso unterscheidet sich die tägliche Zufuhr an Kohlenhydraten, Eiweiß, Fett, Fructose, Ballaststoffen, Alkohol und Flüssigkeit nicht zwischen den drei Studiengruppen. Hinsichtlich der prozentualen Kohlenhydratzufuhr an der Gesamtenergiezufuhr erreichen die Übergewichtigen mit  $46,9 \pm 6,4\%$  das Maximum und die Adipösen mit  $42,6 \pm 6,2\%$  das Minimum. Die Fructosezufuhr ist bei den Kontrollen am höchsten und bei Adipösen am geringsten ( $17,0 \pm 12,3$  vs.  $11,9 \pm 4,6$  g/Tag). Die durchschnittliche Eiweißzufuhr ist mit  $16,6 \pm 3,3$  Energie% bei den Kontrollen am geringsten und mit  $17,5 \pm 3,4$  Energie% bei den Adipösen am höchsten. Von allen drei Gruppen erreichen die adipösen Probanden mit  $91,6 \pm 35,6$  g Fett/Tag die maximale und die übergewichtigen Probanden mit  $68,7 \pm 26,2$  g Fett/Tag die geringste durchschnittliche Fettzufuhr. Die Auswertung der Ernährungsprotokolle ergibt, dass die adipösen NAFLD-Probanden deutlich mehr Nahrungscholesterin zu sich nehmen als die Übergewichtigen ( $452 \pm 236$  vs.  $252 \pm 113$  mg/Tag,  $p=0,009$ ). Bemerkenswert ist, dass die Kontrollgruppe mehr Cholesterin im Vergleich zu den Übergewichtigen aufnimmt, wobei hier nur ein Trend besteht ( $351 \pm 111$  vs.  $252 \pm 113$  mg/Tag,  $p=0,077$ ). Alle drei Gruppen konsumieren durchschnittlich  $< 5,0$  g Alkohol pro Tag, wobei die maximale Zufuhr bei den Adipösen mit  $4,9 \pm 10,5$  g/Tag (Spanne 0,0 - 34,2 g/Tag) erreicht wird. Die von der DGE empfohlene Ballaststoffzufuhr von 30 g/Tag wird sowohl von den Kontrollen als auch von den übergewichtigen und adipösen NAFLD-Patienten nicht erreicht ( $20,5 \pm 5,9$  vs.  $21,2 \pm 9,4$  vs.  $19,4 \pm 4,8$  g/Tag). Die durchschnittliche Flüssigkeitszufuhr beträgt in allen drei Gruppen ca. 2,5 Liter pro Tag.

**Tab. 10: Vergleich der Energie- und Nährstoffaufnahme zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen**

Parameter	Kontrollen (n=10)		Übergewichtige (n=13)		Adipöse (n=11)		p-Wert*
	MW ± SA	Min - Max	MW ± SA	Min - Max	MW ± SA	Min - Max	
Energiezufuhr (kcal/Tag)	2107,2 ± 532,8	1075,7 - 2829,9	1830,0 ± 651,2	953,6 - 3146,5	2161,3 ± 968,3	1170,4 - 4025,0	0,421
KH (g/Tag)	229,7 ± 53,8	129,4 - 309,5	214,0 ± 94,9	103,8 - 444,9	232,1 ± 134,0	118,9 - 564,6	0,568
KH (Energie %/Tag)	45,6 ± 7,4	28,0 - 54,0	46,9 ± 6,4	37,0 - 60,0	42,6 ± 6,2	35,0 - 57,0	0,147
Eiweiß (g/Tag)	84,6 ± 25,5	55,6 - 130,1	76,8 ± 26,3	35,8 - 126,0	89,3 ± 33,5	53,0 - 150,9	0,662
Eiweiß (Energie %/Tag)	16,6 ± 3,3	11,0 - 21,0	17,3 ± 2,7	14,0 - 23,0	17,5 ± 3,4	14,0 - 24,0	0,862
Fett (g/Tag)	89,6 ± 35,4	35,9 - 150,7	68,7 ± 26,2	36,9 - 114,1	91,6 ± 35,6	45,8 - 150,8	0,212
Fett (Energie %/Tag)	36,6 ± 6,5	30,0 - 50,0	33,8 ± 6,0	23,0 - 45,0	38,5 ± 6,2	28,0 - 48,0	0,234
Fructose (g/Tag)	17,0 ± 12,3	6,4 - 43,4	12,2 ± 7,5	0,9 - 25,1	11,9 ± 4,6	4,8 - 18,9	0,694
Cholesterin (mg/Tag)	350,8 ± 111,2	148,7 - 497,9	252,4 ± 113,1**	131,1 - 488,6	451,8 ± 235,5**	193,7 - 902,4	<b>0,029</b>
Ballaststoffe (g/Tag)	20,5 ± 5,9	12,3 - 29,2	21,2 ± 9,4	9,7 - 41,7	19,4 ± 4,8	9,8 - 28,9	0,915
Alkohol (g/Tag)	3,5 ± 4,5	0,0 - 10,6	4,2 ± 7,9	0,0 - 24,3	4,9 ± 10,5	0,0 - 34,2	0,223
Flüssigkeit (ml/Tag)	2402,9 ± 684,8	1282,3 - 3344,2	2496,2 ± 900,3	1398,4 - 4398,9	2490,2 ± 838,1	1517,0 - 3900,3	0,965

\*Kruskal-Wallis-Test, \*\*Mann-Whitney-U-Test (p=0,009)

### 5.3.3 Körperzusammensetzung

Insgesamt wurden bei 37 von 42 Probanden BIA-Messungen der Körperzusammensetzung durchgeführt. Fünf Probanden lehnten diese Messung ab. Die Ergebnisse der durchschnittlichen Körperzusammensetzung der Probanden, unterteilt in Gesamtkörperwasser (TBW), absolute und prozentuale Fettmasse (FM), fettfreie Masse (FFM), extrazelluläre Masse (ECM) und Muskelmasse (BCM) sowie deren Minima und Maxima sind in der Tabelle 11 aufgeführt. Ein Vergleich der Werte ergibt, dass sich TBW, FM und ECM signifikant zwischen den drei Gruppen unterscheiden. Adipöse Probanden haben deutlich mehr TBW und FM sowie eine höhere ECM als die Kontrollgruppe; auch im Vergleich zu den übergewichtigen Probanden weisen adipöse Patienten eine signifikant höhere FM auf. Demgegenüber unterscheidet sich die Körperzusammensetzung zwischen Kontrollen und Übergewichtigen nicht (Tab. 11).

**Tab. 11: Vergleich der Körperzusammensetzung zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen**

Parameter	Kontrollen (n=14)		Übergewichtige (n=12)		Adipöse (n=11)		p-Wert*	p-Wert**	p-Wert**	p-Wert**
	MW ± SA	Min - Max	MW ± SA	Min - Max	MW ± SA	Min - Max	alle Gruppen	Kontrollen vs. Adipöse	Kontrollen vs. Übergewichtige	Adipöse vs. Übergewichtige
TBW in l	37,0 ± 7,5	25,0 - 50,9	41,3 ± 8,1	28,5 - 52,5	47,2 ± 10,2	29,2 - 62,0	<b>0,048</b>	<b>0,021</b>	0,180	0,190
FM in kg	17,9 ± 6,7	9,9 - 34,7	23,6 ± 5,3	16,1 - 32,3	43,4 ± 16,0	25,6 - 82,7	<b>&lt; 0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,018</b>	<b>&lt; 0,001</b>
FM in %	26,0 ± 8,0	15,2 - 40,8	29,6 ± 6,7	22,1 - 40,9	40,3 ± 8,4	28,5 - 53,8	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	0,197	<b>0,003</b>
FM in % Männer	19,0 ± 3,7	15,2 - 25,1	24,9 ± 2,9	22,1 - 29,6	36,2 ± 9,3	28,5 - 53,8	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,014</b>	<b>0,002</b>
FM in % Frauen	31,2 ± 6,0	21,5 - 40,8	36,1 ± 4,8	30,0 - 40,9	45,1 ± 3,5	41,9 - 50,4	<b>0,003</b>	<b>0,002</b>	0,136	<b>0,008</b>
FFM in kg	50,9 ± 9,6	36,1 - 68,8	56,9 ± 10,6	40,9 - 71,2	63,0 ± 13,2	40,7 - 82,1	0,060	0,029***	0,134	0,260
ECM in kg	23,1 ± 3,8	16,9 - 29,7	24,8 ± 4,0	17,3 - 31,1	28,0 ± 5,1	18,8 - 34,8	<b>0,042</b>	<b>0,015</b>	0,268	0,129
BCM in kg	27,8 ± 6,3	19,2 - 40,0	32,1 ± 7,0	23,5 - 40,4	35,0 ± 8,5	21,9 - 47,3	0,060	0,024***	0,148	0,324

\*Kruskal-Wallis-Test, \*\*Mann-Whitney-U-Test, \*\*\*mit Bonferroni-Korrektur (Signifikanzniveau p<0,017)

## **5.4 FGF-19-Serumkonzentrationen**

Nach 10-stündiger Nüchternphase wurden die FGF-19-Serumkonzentrationen nüchtern, 2, 4 und 6 Stunden nach oralem Fettoleranztest (oFTT) mittels ELISA bestimmt. Die FGF-19-Mittelwerte sowie Minima und Maxima der Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen sind in der Tabelle 12 aufgeführt.

### **5.4.1 Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen**

In der gesamten Studiengruppe (n=42) reichen die Nüchtern-FGF-19-Konzentrationen von 17,0 bis 392,0 pg/ml (MW 142,6 ± 82,8). Bei den gesunden Kontrollen variieren die Hormonkonzentrationen um das 7,5-fache, bei den Übergewichtigen um das 13,7-fache und bei den Adipösen um den Faktor 9,4. Hierbei zeigen die adipösen NAFLD-Patienten signifikant geringere FGF-19-Serumspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe (Tab. 12, Abb. 12 vs. 14). Die Nüchtern-FGF-19-Spiegel der übergewichtigen NAFLD-Probanden sind im Vergleich zu den normalgewichtigen Kontrollen ebenfalls tendenziell geringer (Tab. 12, Abb. 12 und 13).

### **5.4.2 FGF-19-Serumkonzentrationen nach oFTT**

Bei den Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen kommt es nach oraler Fettbelastung zum Anstieg der FGF-19-Konzentrationen (Abb. 12-14). Zwei Stunden nach dem oFTT reicht die Spanne der FGF-19-Konzentrationen aller Probanden von 10,0 bis 697,0 pg/ml (MW 225,2 ± 166,2). Zu diesem Zeitpunkt erreichen die übergewichtigen NAFLD-Patienten signifikant geringere FGF-19-Spiegel gegenüber den Kontrollprobanden (Tab. 12, Abb. 12 und 13). Die maximale Hormonkonzentration wurde in allen drei Gruppen nach 4 Stunden festgestellt (Tab. 12, Abb. 12-14). In der gesamten Studiengruppe reicht die Hormonspanne zu diesem Zeitpunkt von 59,0 bis 935,0 pg/ml (MW 321,6 ± 219,2). Diese ist in der Kontrollgruppe mit durchschnittlich 378,9 ± 202,1 pg/ml am höchsten und doppelt so hoch wie die Nüchtern-FGF-19-Konzentration (Abb. 12, Tab. 12). Die Übergewichtigen zeigen 4 Stunden nach dem oFTT die geringsten FGF-19-Spiegel

im Vergleich zu den Kontrollen und Adipösen (Abb. 13). Hierbei ist die Hormonkonzentration um den Faktor 1,9 in Bezug auf den Ausgangswert gestiegen (Abb. 13, Tab. 12). Bei den Adipösen sind die FGF-19-Spiegel 4 Stunden nach dem oFTT um den Faktor 3,3 erhöht (Abb. 14, Tab. 12). Nach 6 Stunden reichen die FGF-19-Spiegel im gesamten Studienkollektiv von 48,0 bis 802,0 pg/ml (MW 235,8 ± 171,4) und sind in der Kontrollgruppe am höchsten. Zudem liegen die Hormonspiegel zu diesem Zeitpunkt in allen drei Gruppen noch über den FGF-19-Basiswerten (Tab. 12).

Tab. 12: Vergleich der FGF-19-Serumkonzentrationen zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen

Zeitpunkt (h)	Kontrollen (n=16)		Übergewichtige (n=14)		Adipöse (n=12)		p-Wert*	p-Wert**	p-Wert**	p-Wert**
	MW ± SA (pg/ml)	Min - Max (pg/ml)	MW ± SA (pg/ml)	Min - Max (pg/ml)	MW ± SA (pg/ml)	Min - Max (pg/ml)	alle Gruppen	Kontrollen vs. Adipöse	Kontrollen vs. Übergewichtige	Adipöse vs. Übergewichtige
t=0	187,6 ± 92,3	52,0 - 392,0	127,9 ± 73,7	20,0 - 273,0	99,6 ± 47,8	17,0 - 160,0	<b>0,023</b>	<b>0,010</b>	0,064	0,322
t=2	287,4 ± 177,7	63,0 - 697,0	143,7 ± 61,4	58,0 - 228,0	237,3 ± 202,9	10,0 - 681,0	<b>0,029</b>	0,265	<b>0,004</b>	0,315
t=4	378,9 ± 202,1	65,0 - 711,0	249,1 ± 163,8	59,0 - 638,0	329,8 ± 283,1	70,0 - 935,0	0,212	0,324	0,085	0,595
t=6	252,4 ± 144,2	64,0 - 605,0	217,0 ± 179,7	48,0 - 756,0	235,5 ± 205,3	59,0 - 802,0	0,348	0,353	0,163	0,771

\*Kruskal-Wallis-Test, \*\*Mann-Whitney-U-Test

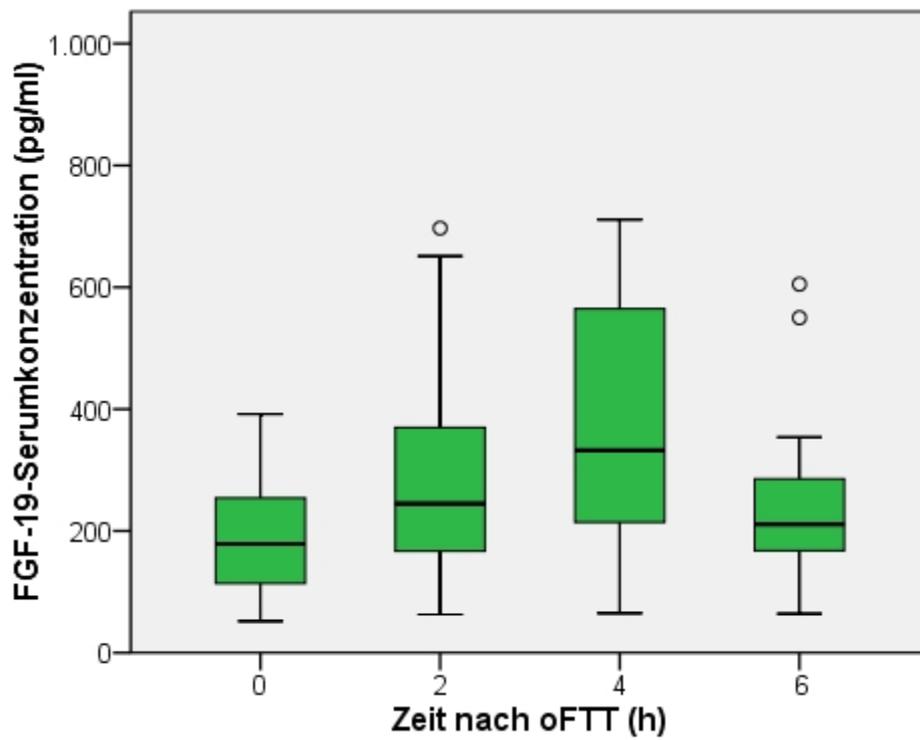


Abb. 12: FGF-19-Serumkonzentrationen der Kontrollen.

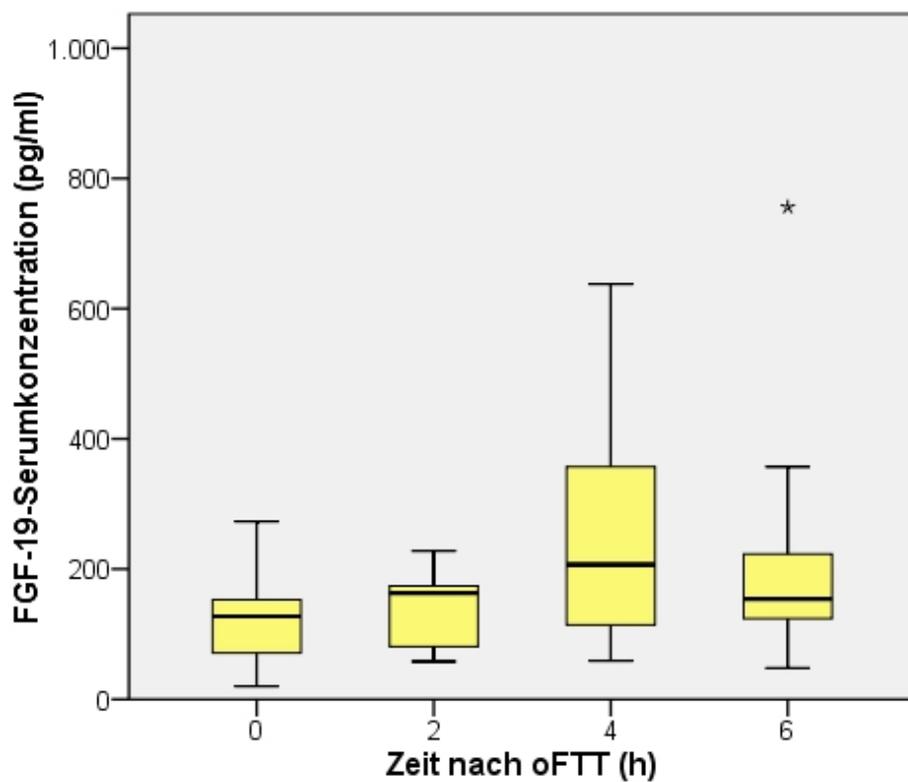
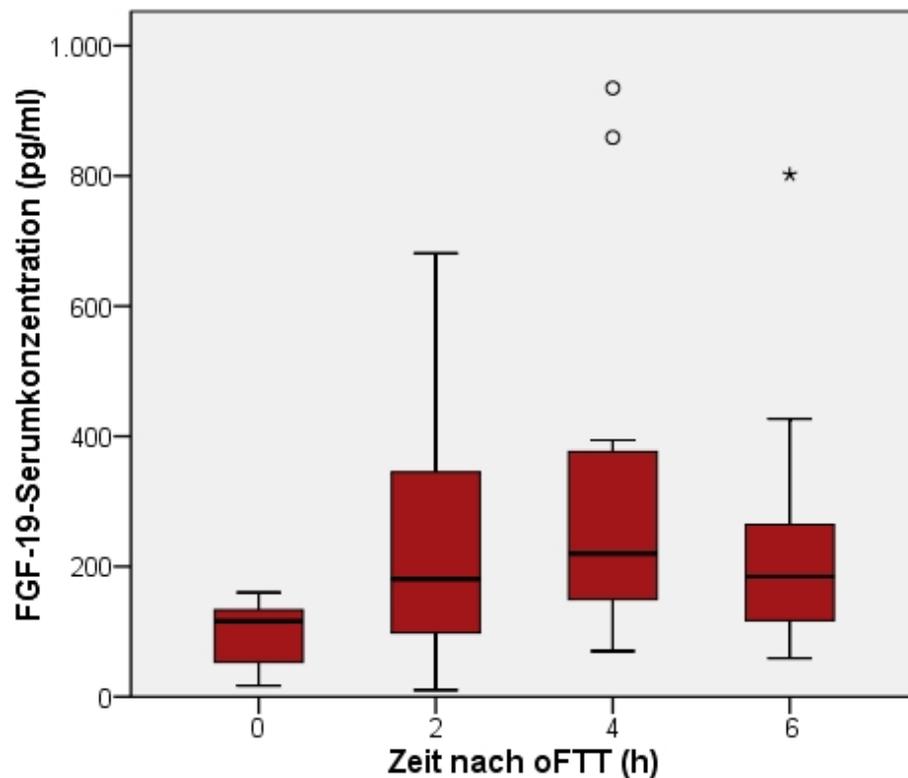


Abb. 13: FGF-19-Serumkonzentrationen der Übergewichtigen.



**Abb. 14: FGF-19-Serumkonzentrationen der Adipösen.**

## 5.5 Metabolische Basisparameter

Die durchschnittlichen biochemischen Basiswerte wie Glucose, Cholesterin, HDL und LDL sowie deren Minima und Maxima der Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen sind in der Tabelle 13 aufgeführt. Die Referenzbereiche des Zentrallabors des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin am Universitätsklinikum des Saarlandes sind zudem in Tabelle 14 aufgeführt. Nüchtern-Glucose, Cholesterin und LDL unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Kontrollen, übergewichtigen und adipösen NAFLD-Probanden. Demgegenüber unterscheiden sich die HDL-Werte signifikant zwischen den drei Gruppen. Adipöse haben ein signifikant geringeres HDL als die Kontrollgruppe (Tab. 13).

**Tab. 13: Vergleich der metabolischen Basisparameter zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen**

Parameter	Kontrollen (n=16)		Übergewichtige (n=14)		Adipöse (n=12)		p-Wert*	p-Wert**	p-Wert**	p-Wert**
	MW ± SA	Min - Max	MW ± SA	Min - Max	MW ± SA	Min - Max	alle Gruppen	Kontrollen vs. Adipöse	Kontrollen vs. Übergewichtige	Adipöse vs. Übergewichtige
Glucose (mg/dl)	86,6 ± 10,4	76,0 - 116,0	94,0 ± 16,2	74,0 - 124,0	87,5 ± 13,0	74,0 - 110,0	0,360	0,606	0,244	0,246
Cholesterin (mg/dl)	199,2 ± 45,6	129,0 - 283,0	225,7 ± 53,7	145,0 - 319,0	180,0 ± 21,6	151,0 - 213,0	0,075	0,307	0,212	0,021***
HDL (mg/dl)	61,4 ± 20,8	35,2 - 104,1	52,4 ± 12,4	32,3 - 79,3	43,2 ± 13,8	20,2 - 62,3	<b>0,036</b>	<b>0,008</b>	0,262	0,193
LDL (mg/dl)	120,9 ± 34,6	78,2 - 183,0	148,2 ± 46,6	74,2 - 220,5	111,4 ± 20,1	71,8 ± 141,7	0,132	0,684	0,166	0,039***

\*Kruskal-Wallis-Test, \*\*Mann-Whitney-U-Test, \*\*\*mit Bonferroni-Korrektur (Signifikanzniveau  $p < 0,017$ )

**Tab. 14: Referenzbereiche der metabolischen Basisparameter**

Parameter	Referenzbereich
Glucose (mg/dl)	70 - 115
Cholesterin (mg/dl)	< 200
HDL (mg/dl)	45 - 65
LDL (mg/dl)	< 135

## **5.6 Triglyzeridserumkonzentrationen**

### **5.6.1 Nüchtern-Triglyzeridserumkonzentrationen**

Die durchschnittlichen Nüchtern-Triglyzeridserumkonzentrationen der Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen sind in der Tabelle 15 aufgeführt. In allen drei Gruppen liegen die Triglyzeridspiegel innerhalb des Referenzbereiches (0 bis 200 mg/dl). Diese sind bei den Kontrollen am geringsten und bei den Adipösen am höchsten, wobei sich die Konzentrationen zwischen den Gruppen nicht unterscheiden (Tab. 15).

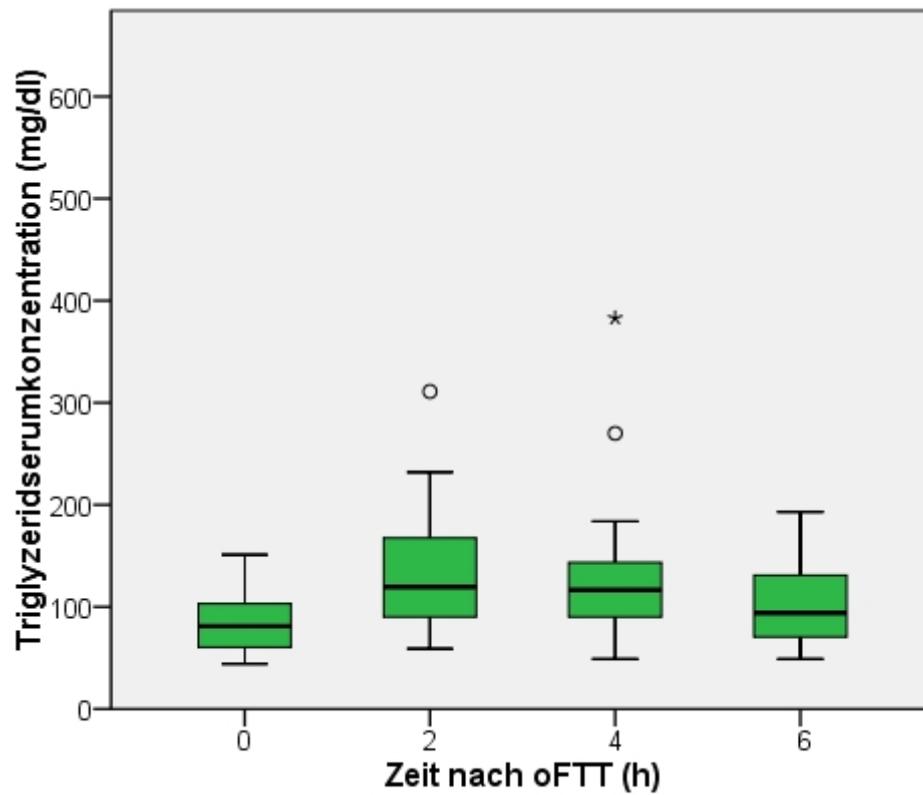
### **5.6.2 Triglyzeridserumkonzentrationen nach oFTT**

Bei den Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen kommt es zum Anstieg der Triglyzeridspiegel nach oraler Fettbelastung (Tab. 15, Abb. 15-17). Zwei Stunden nach dem oFTT sind die Triglyzeridkonzentrationen bei den adipösen NAFLD-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht (Tab. 15, Abb. 15 und 17). Vier und 6 Stunden postprandial weisen neben den Adipösen auch die Übergewichtigen signifikant höhere Triglyzeridspiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe auf (Tab. 15). Die maximalen Triglyzeridkonzentrationen waren bei den Kontrollen nach 2 Stunden und bei den übergewichtigen und adipösen NAFLD-Probanden nach 4 Stunden erreicht. Die durchschnittlich maximale Triglyzeridkonzentration liegt bei  $281 \pm 162$  mg/dl in der Adipositasgruppe 4 Stunden nach dem oFTT (Abb. 17). Sechs Stunden nach dem oFTT liegen die Triglyzeridkonzentrationen bei den Kontrollen und Übergewichtigen wieder innerhalb des Referenzbereiches ( $< 200$  mg/dl), bei den Adipösen jedoch nicht. Insgesamt weisen die Kontrollen zu allen vier Messzeitpunkten gegenüber adipösen und übergewichtigen NAFLD-Patienten geringere Triglyzeridspiegel auf (Tab. 15).

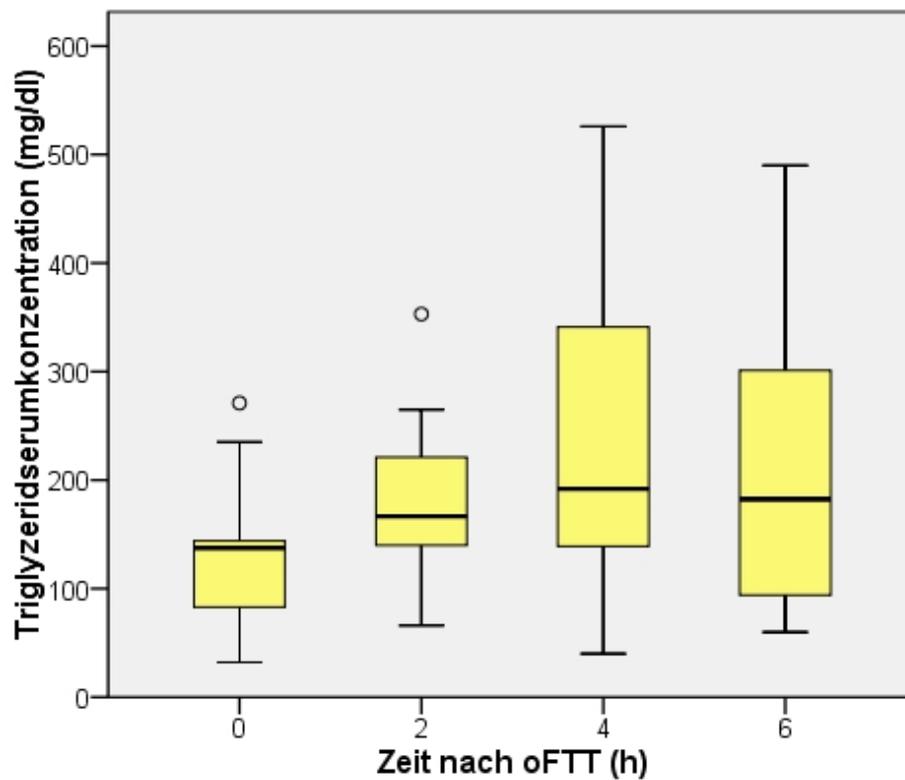
**Tab. 15: Vergleich der Triglyzeridserumkonzentrationen zwischen Kontrollen, Übergewichtigen und Adipösen**

Zeitpunkt (h)	Kontrollen (n=16)		Übergewichtige (n=14)		Adipöse (n=12)		p-Wert*	p-Wert**	p-Wert**	p-Wert**
	MW ± SA (mg/dl)	Min - Max (mg/dl)	MW ± SA (mg/dl)	Min - Max (mg/dl)	MW ± SA (mg/dl)	Min - Max (mg/dl)	alle Gruppen	Kontrollen vs. Adipöse	Kontrollen vs. Übergewichtige	Adipöse vs. Übergewichtige
t=0	84,3 ± 30,6	44,0 - 151,0	125,7 ± 66,9	32,0 - 271,0	127,3 ± 53,9	42,0 - 231,0	0,061	0,036***	0,062	0,640
t=2	138,2 ± 69,7	59,0 - 311,0	176,9 ± 76,7	66,0 - 353,0	232,0 ± 99,0	87,0 - 437,0	<b>0,019</b>	<b>0,009</b>	0,083	0,131
t=4	137,6 ± 83,3	49,0 - 383,0	233,9 ± 144,2	40,0 - 526,0	280,6 ± 162,2	79,0 - 633,0	<b>0,010</b>	<b>0,002</b>	<b>0,044</b>	0,403
t=6	105,2 ± 46,2	49,0 - 193,0	199,9 ± 126,4	60,0 - 490,0	254,8 ± 122,2	111,0 - 500,0	<b>0,001</b>	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,024</b>	0,176

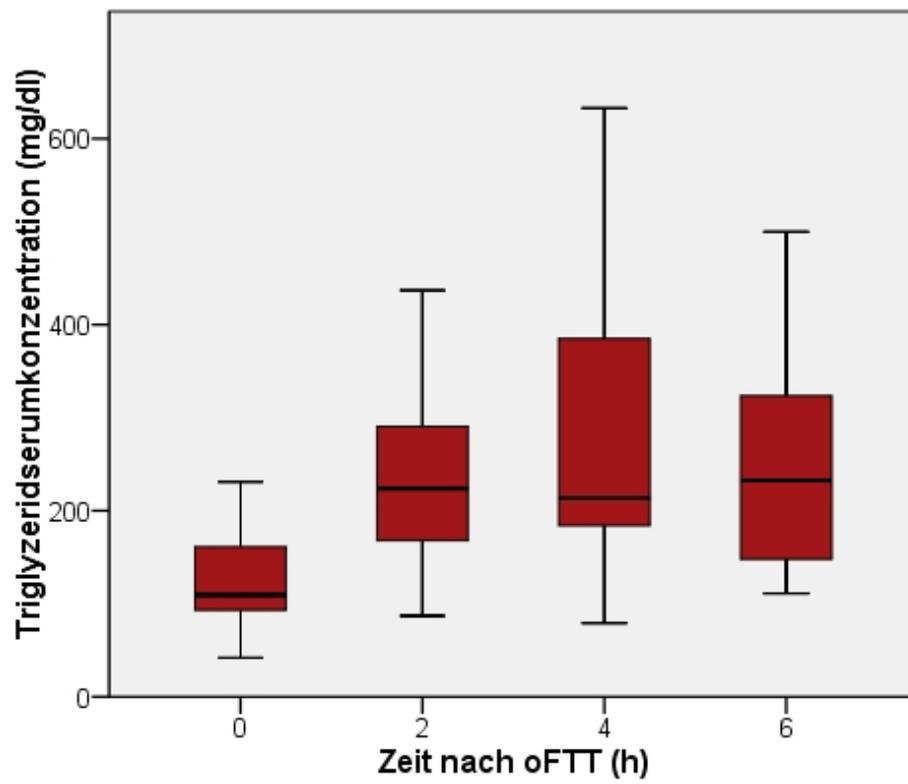
\*Kruskal-Wallis-Test, \*\*Mann-Whitney-U-Test, \*\*\*mit Bonferroni-Korrektur (Signifikanzniveau p<0,017)



**Abb. 15: Triglyceridserumkonzentrationen der Kontrollen.**



**Abb. 16: Triglyceridserumkonzentrationen der Übergewichtigen.**



**Abb. 17: Triglyzeridserumkonzentrationen der Adipösen.**

## 5.7 Korrelationen zwischen FGF-19 und verschiedenen Parametern

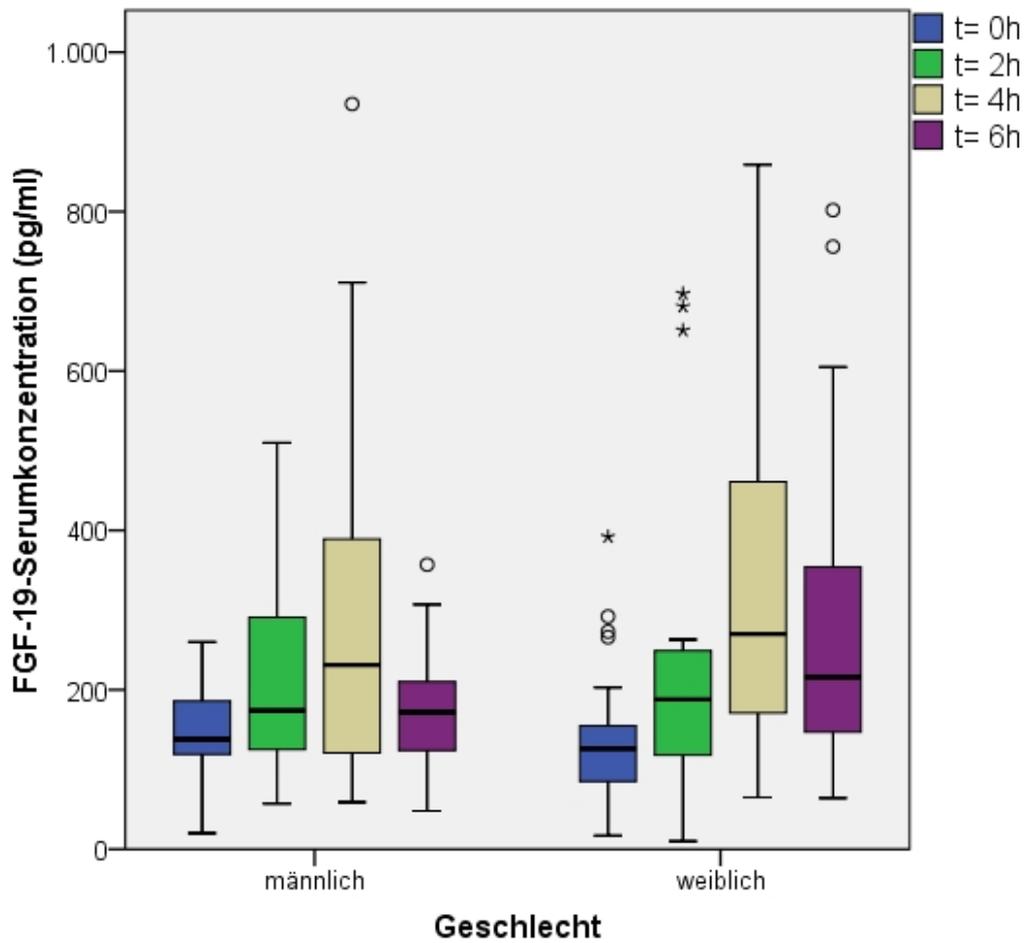
### 5.7.1 Einfluss des Geschlechts auf FGF-19

Die FGF-19-Spiegel beider Geschlechter sind in Tabelle 16 dargestellt. Bei Frauen und Männern steigt die FGF-19-Konzentration nach dem oFTT an und erreicht in beiden Gruppen 4 Stunden postprandial das Maximum. Frauen weisen nüchtern, 2, 4 und 6 Stunden nach dem oFTT im Vergleich zu Männern höhere FGF-19-Spiegel auf (Abb. 18). Sechs Stunden nach der Fettbelastung erreichen die FGF-19-Konzentrationen beider Geschlechter sogar fast einen signifikanten Unterschied (Tab. 16, Abb. 18).

**Tab. 16: FGF-19-Serumkonzentrationen von Männern und Frauen**

<b>Zeitpunkt (h)</b>	<b>Männer (n=21) MW ± SA (pg/ml)</b>	<b>Frauen (n=21) MW ± SA (pg/ml)</b>	<b>p-Wert*</b>
t=0	141,4 ± 72,7	143,7 ± 93,6	0,803
t=2	212,8 ± 133,1	237,7 ± 196,4	0,751
t=4	297,5 ± 223,1	345,8 ± 218,0	0,396
t=6	174,4 ± 83,4	297,1 ± 213,0	0,051

\*Mann-Whitney-U-Test



**Abb. 18: FGF-19-Serumkonzentrationen der Männer (n=21) und Frauen (n=21).**

### 5.7.2 Einfluss des Alters auf FGF-19

Sowohl die Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen aller Probanden (n=42) als auch die Hormonkonzentrationen 2, 4 und 6 Stunden nach oraler Fettbelastung korrelieren nicht mit dem Alter.

### 5.7.3 Korrelationen zwischen FGF-19 und Ernährungsstatus

#### 5.7.3.1 Einfluss des BMI auf FGF-19

Für die gesamte Studiengruppe (n=42) besteht ein negativer Zusammenhang zwischen dem BMI und den Nüchtern-FGF-19-Serumspiegeln (Abb. 19). Je höher der BMI ist, desto geringer ist die Nüchtern-FGF-19-Konzentration. Dagegen gibt es keine Korrelation zwischen dem BMI und den FGF-19-Spiegeln 2, 4 und 6 Stunden nach dem oFTT.

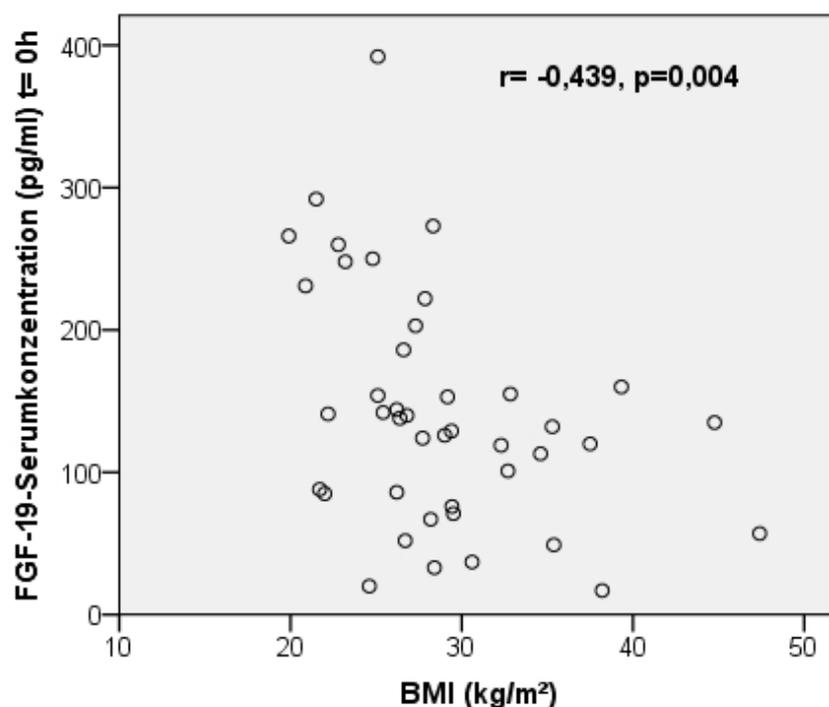
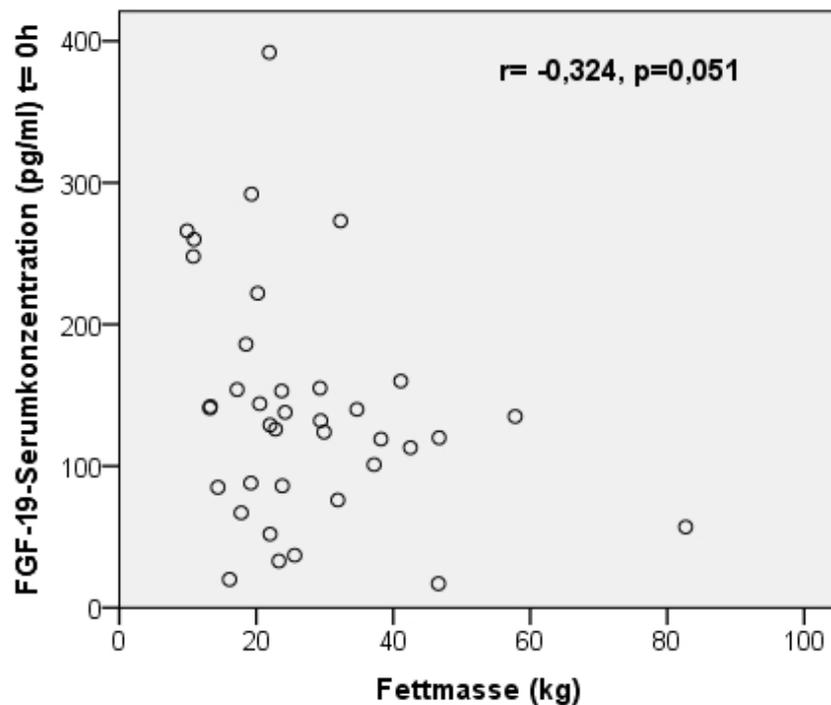


Abb. 19: Zusammenhang zwischen BMI und Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen (n=42).

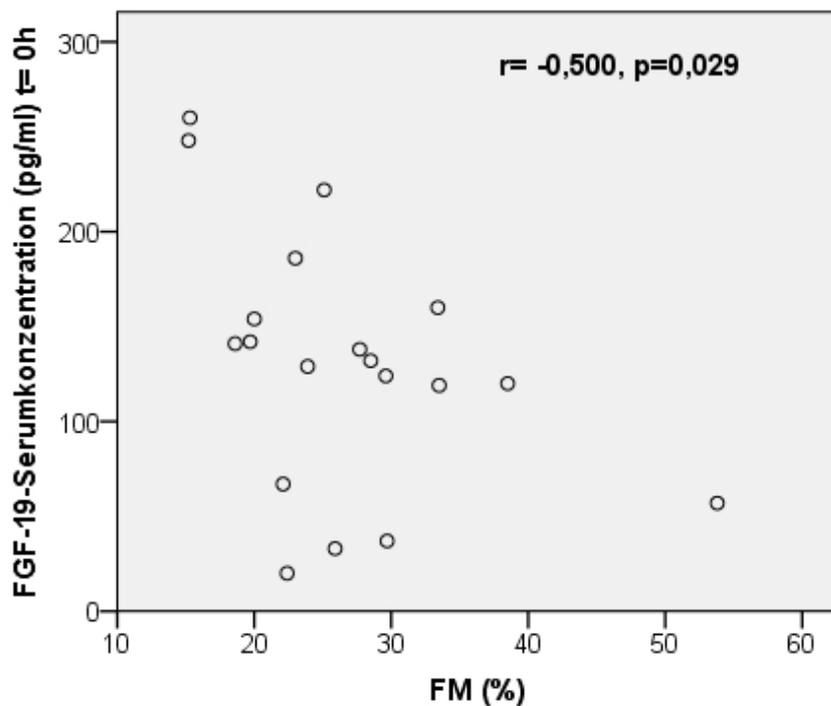
#### 5.7.3.2 Einfluss der Körperzusammensetzung auf FGF-19

Sowohl TBW als auch FFM und BCM haben keinen Einfluss auf die Nüchtern- und postprandialen FGF-19-Serumkonzentrationen. Demgegenüber besteht eine Tendenz zur negativen Korrelation zwischen der absoluten FM und den Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen (Abb. 20). Je höher die FM ist, desto geringer ist die Nüchtern-FGF-19-Konzentration. Interessanterweise korrelieren bei den Männern die Nüchtern-FGF-19-Spiegel negativ mit der prozentualen FM (Abb. 21). Darüber

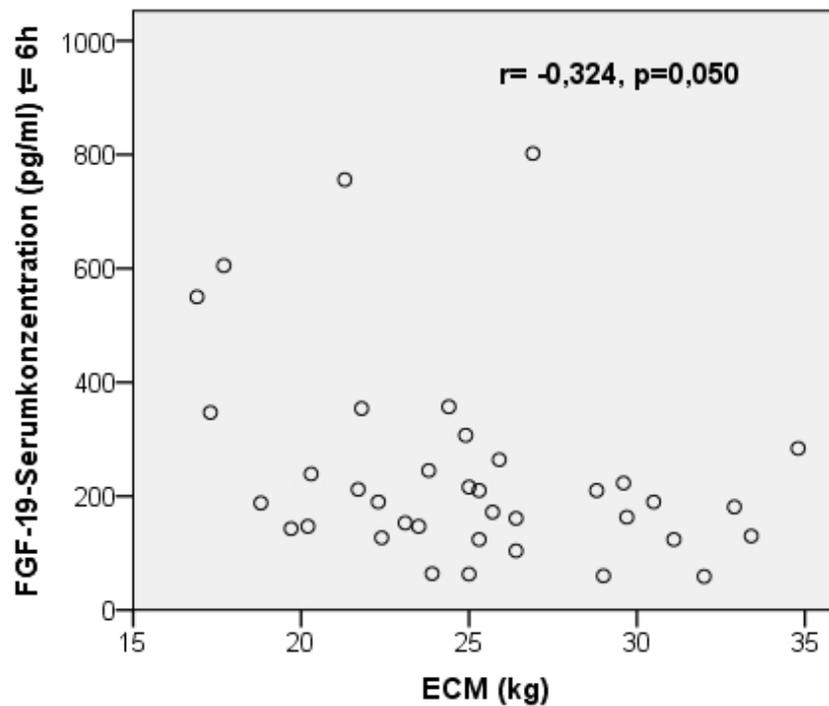
hinaus scheint die ECM einen Einfluss auf die FGF-19-Spiegel 6 Stunden nach dem oFTT zu haben (Abb. 22). Je höher die ECM ist, desto niedriger sind die FGF-19-Konzentrationen.



**Abb. 20: Zusammenhang zwischen Körperfettmasse (kg) und Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen (n=37).**



**Abb. 21: Zusammenhang zwischen Körperfettmasse (%) und Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen bei Männern (n=19).**



**Abb. 22: Zusammenhang zwischen Extrazellulärer Körpermasse (kg) und FGF-19-Serumkonzentrationen 6h nach oFTT (n=37).**

### 5.7.3.3 Einfluss der Ernährung auf FGF-19

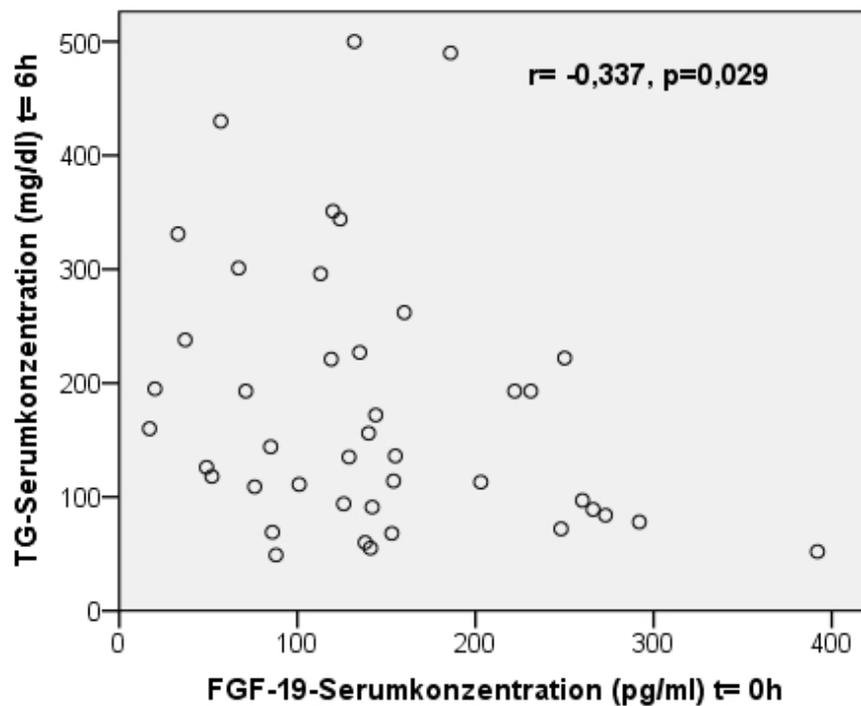
Die vorliegende Studie zeigt, dass die Ernährung, welche über 3 Tage vor Untersuchungsbeginn protokolliert wurde, keinen Einfluss auf die Nüchtern- und postprandialen FGF-19-Serumkonzentrationen bei normalgewichtigen Kontrollen, übergewichtigen und adipösen NAFLD-Probanden hat. Es bestehen keine Korrelationen mit der durchschnittlich berechneten Zufuhr an Gesamtenergie, Kohlenhydraten, Fett, Eiweiß, Ballaststoffen, Cholesterin, Flüssigkeit und Alkohol.

### 5.7.4 Korrelationen zwischen FGF-19 und metabolischen Basisparametern

Es bestehen keine Zusammenhänge zwischen den FGF-19-Serumkonzentrationen nüchtern, 2, 4, und 6 Stunden nach dem oFTT und den Basiswerten Glucose, Gesamtcholesterin, HDL und LDL.

### 5.7.5 Korrelationen zwischen FGF-19 und Triglyzeridserumkonzentrationen

Es besteht ein negativer Zusammenhang zwischen den Nüchtern-FGF-19-Konzentrationen und den Triglyzeridkonzentrationen 6 Stunden nach dem oFTT. Je höher die Nüchtern-FGF-19-Spiegel sind, desto niedriger sind die Triglyzeridkonzentrationen 6 Stunden nach oraler Fettbelastung (Abb. 23).



**Abb. 23: Zusammenhang zwischen Nüchtern-FGF-19- und Triglyzeridserumkonzentrationen 6h nach oFTT (n=42).**

## 6 Diskussion

Die molekularen Mechanismen, die an der Entstehung der nichtalkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) beteiligt sind, sind komplex, weshalb die Pathomechanismen bisher unvollständig verstanden sind. Experimentelle Studien weisen darauf hin, dass das intestinale Hormon Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) und dessen insulinunabhängige Signalwege den hepatischen Lipidstoffwechsel modulieren könnten (Jones 2007). Einerseits wird die intestinale FGF-19-Sekretion durch Gallensäuren induziert, und andererseits unterdrückt FGF-19 die hepatische *de novo* Gallensäurensynthese (Chiang 2009). FGF-19 könnte einen NAFLD-protectiven Effekt haben, indem es die  $\beta$ -Oxidation in der Leber induziert und gleichzeitig die Triglyzeridsynthese hemmt (Holt et al. 2003, Fu et al. 2004). Vor diesem Hintergrund war es das Ziel unserer Studie zu untersuchen, ob sich die FGF-19-Serumkonzentrationen bei übergewichtigen und adipösen NAFLD-Patienten von gesunden Probanden nüchtern und nach einem oralen Fetttoleranztest unterscheiden. Weiterhin sollte untersucht werden, ob metabolische Basisparameter, Ernährung, BMI, Körperzusammensetzung, Alter und Geschlecht einen Einfluss auf die FGF-19-Spiegel haben.

Erstes wichtiges Ergebnis der vorliegenden Studie ist, dass die Nüchtern-FGF-19-Spiegel der adipösen NAFLD-Probanden im Vergleich zu den normalgewichtigen Kontrollen vermindert sind. Zudem haben auch die übergewichtigen NAFLD-Patienten geringere Nüchtern-FGF-19-Spiegel als die Kontrollprobanden. Interessanterweise zeigen die übergewichtigen NAFLD-Patienten nach der oralen Fettbelastung deutlich geringere FGF-19-Serumkonzentrationen im Vergleich zu den Kontrollen. Bei Erwachsenen fanden Schreuder et al. (2010) keinen Unterschied bei den Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen zwischen Kontrollen und adipösen NAFLD-Probanden. Diese Studie zeigt auch keinen Unterschied bei den FGF-19-Spiegeln zwischen den Kontrollen und adipösen NAFLD-Probanden nach einer oralen Fettbelastung. Die NAFLD-Probanden der niederländischen Studie hatten einen durchschnittlichen BMI von  $30,6 \pm 3,7 \text{ kg/m}^2$  und waren somit nach WHO-Kriterien dem Adipositasgrad I zuzuordnen; die Kontrollgruppe in dieser Untersuchung hatte einen mittleren BMI von  $26,4 \pm 3,5 \text{ kg/m}^2$  und war damit übergewichtig (Schreuder et al. 2010). Die adipösen Patienten der vorliegenden Studie sind mit einem mittleren BMI von  $36,7 \pm 5,1 \text{ kg/m}^2$  bereits dem Adipositasgrad

II zuzuordnen, während der mittlere BMI der Kontrollen normal ist. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass die Nüchtern-FGF-19-Spiegel bei NAFLD-Patienten nur bei einer deutlichen Adipositas wie in der vorliegenden Studie reduziert sind. Tatsächlich besteht für unser gesamtes Studienkollektiv eine signifikante negative Korrelation zwischen den Nüchtern-FGF-19-Spiegeln und dem BMI. So berichten auch Mráz et al. (2011), dass die Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen bei Adipösen geringer als bei Normalgewichtigen sind. Aktuelle Untersuchungen von Roesch et al. (2015) ergaben, dass Patienten mit Adipositas Grad III und Diabetes mellitus Typ 2 signifikant geringere Nüchtern-FGF-19-Serumspiegel im Vergleich zu adipösen Probanden ohne Diabetes mellitus aufzeigen. Durovcová et al. (2010) fanden in einer Studie mit kleinen Patientengruppen keinen Unterschied hinsichtlich der Plasma-FGF-19-Spiegel bei Patienten mit Cushing-Syndrom, Adipösen und schlanken Kontrollen. Die NAFLD-Prävalenz wurde in diesen Studien nicht erfasst, sodass ein Vergleich der hier vorliegenden Ergebnisse nur auf Grundlage des Adipositasgrades möglich ist.

Interessanterweise berichtet eine polnische Arbeitsgruppe über signifikant geringere Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen bei adipösen Jugendlichen mit NAFLD im Vergleich zu adipösen Jugendlichen ohne NAFLD. Die NAFLD-Diagnosen erfolgten basierend auf Ultraschalluntersuchungen und der Alanin-Aminotransferase (ALT)-Aktivitäten. Des Weiteren besteht eine inverse Korrelation zwischen den FGF-19- und ALT-Spiegeln und Triglyzeriden. Die Autoren schlussfolgern, dass die geringen FGF-19-Konzentrationen ein wichtiger Risikofaktor für die NAFLD-Entwicklung sein könnten (Wojcik et al. 2012). Jansen et al. (2011) berichten, dass eine Gewichtsreduktion drei Monate nach einer Roux-en-Y-Magenbypass-Operation bei fettleibigen Patienten von  $138 \pm 17$  auf  $113 \pm 17$  kg den hepatischen Fettgehalt von 13,4 auf 5,8% reduzierte und den HOMA-Index von  $7,3 \pm 6,4$  auf  $2,1 \pm 1,4$  verbesserte. Gleichzeitig war die Gewichtsreduktion mit höheren Gallensäuren- und FGF-19-Spiegeln assoziiert. Aktuell fanden auch Sachdev et al. (2015) heraus, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, die sich einer Roux-en-Y-Magenbypass-Operation unterzogen, die Nüchtern-FGF-19-Spiegel nach einem Jahr signifikant ansteigen. Diese Studien unterstützen die Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchung, dass das gleichzeitige Vorliegen von Adipositas und Fettleber mit geringeren Nüchtern-FGF-19-Konzentrationen assoziiert ist.

In unserer Studie erfolgte die Leberdiagnostik mittels Ultraschall und/oder Leberbiopsie oder Fibroscan. Die Leberbiopsie gilt nach wie vor als Goldstandard. Der Ultraschall ist aber immer noch die Standardmethode in der Leberdiagnostik und nicht invasiv. Diese Methode hat aber bei sehr adipösen Patienten auch Grenzen. Bei den übergewichtigen und adipösen Probanden wurde der Steatosegrad überwiegend semiquantitativ mittels Ultraschall erfasst, da diese Methode im klinischen Alltag schnell und komplikationslos einsetzbar ist. Nur bei fünf Patienten erfolgten Biopsien, da eine weitere Abklärung aus ärztlicher Sicht indiziert war. Die in der hier durchgeführten Studie unterschiedlich eingesetzten Methoden in der Leberdiagnostik lassen einen Vergleich der Steatosegrade zwischen den übergewichtigen und adipösen Probanden nicht zu. Die Ergebnisse von Schreuder et al. (2010) zeigen keine Korrelation zwischen dem mittels Magnetresonanztomographie (H-MRS) ermittelten Leberfettgehalt bei NAFLD-Probanden und den FGF-19-Spiegeln. Auch in einer türkischen Studie berichten Eren et al. (2012), dass die FGF-19-Serumspiegel bei NAFLD-Probanden unabhängig vom mittels Leberbiopsie ermittelten Steatosegrad reduziert sind. Des Weiteren stellen die Autoren fest, dass sich die FGF-19-Konzentrationen zwischen NAFLD-Patienten mit und ohne metabolisches Syndrom nicht unterscheiden. Bemerkenswerterweise sind die Hormonkonzentrationen der NAFLD-Probanden ohne metabolisches Syndrom signifikant niedriger als bei den Kontrollen. Demgegenüber berichten Stejskal et al. (2008) über verringerte FGF-19-Spiegel bei Patienten mit metabolischem Syndrom im Vergleich zu normalgewichtigen Kontrollen. Erstaunlicherweise konnten kürzlich in einer italienischen Studie an Kindern mit Biopsie-gesicherter NAFLD (NASH<sup>-</sup> und NASH<sup>+</sup>) inverse Assoziationen zwischen den FGF-19-Spiegeln, der hepatischen  $\beta$ -Klotho-Expression und dem Schweregrad der Fettleber nachgewiesen werden. Die Nüchtern-FGF-19-Serumspiegel sind bei den gesunden Kontrollen deutlich höher als bei den NASH<sup>-</sup> und NASH<sup>+</sup>-Patienten. Mit zunehmendem NAFLD-Schweregrad nimmt die hepatische  $\beta$ -Klotho-Expression ab (Alisi et al. 2013).

Basierend auf unserem Studiendesign kann für die vorliegende Studie die Aussage getroffen werden, dass Adipositas Grad II in Kombination mit einer Fettleber mit verringerten Nüchtern-FGF-19-Spiegel assoziiert ist. Inwieweit Zusammenhänge zwischen dem Steatosegrad und den FGF-19-Spiegeln bestehen, müsste in weiteren Studien untersucht werden, da die bisherigen Ergebnisse kontrovers sind. Dies

könnte auf die unterschiedlich untersuchten NAFLD-Stadien, aber auch auf die divergierende Leberdiagnostik in den Studien zurückzuführen sein.

Aktuelle Studien konzentrieren sich insbesondere auf Untersuchungen von Funktionsstörungen der intestinalen FXR-FGF19-Achse und deren Auswirkungen auf die FGF-19-Serumspiegel und Leberfunktion. Die Pathogenese von Lebererkrankungen, die mit Darmfunktionsstörungen assoziiert sind, ist bisher unklar. Kürzlich untersuchten Mutanen und Mitarbeiter (2015) deshalb die FGF-19-Serumspiegel bei 52 pädiatrischen Patienten mit Darmversagen und 39 Patienten wurden einer Leberbiopsie unterzogen. Zu den Ursachen von Darmversagen zählten in dieser Studie Erkrankungen wie Kurzdarmsyndrom, Morbus Hirschsprung und chronisch intestinale Pseudoobstruktion (CIPO). Die Autoren weisen bei den Patienten mit einem Darmversagen signifikant geringere FGF-19-Konzentrationen im Vergleich zu den gesunden Kontrollen auf. Die Hormonspiegel sind noch mehr verringert bei den Patienten ohne Restileum im Vergleich zu den Probanden mit teilweise oder ganz erhaltenem Ileum und korrelieren signifikant mit der Restileumlänge. Die Leberbiopsie ergab bei 62% der Probanden eine Fibrose, bei 46% eine Steatose, bei 18% eine portale Inflammation und bei 13% der Patienten eine Cholestase. Interessanterweise korrelieren die FGF-19-Spiegel negativ mit dem anhand des Fibrotest abgeschätzten METAVIR-Fibrosestadiums. Der Fibrotest ist ein kombinierter Test, der einen mathematischen Algorithmus verschiedener Serumparameter zur Bestimmung des Leberfibrosestadiums beinhaltet (Lörke et al. 2007).

Interessanterweise berichtet kürzlich ein Forscherteam aus Ulm, dass Biopsie-gesicherte NASH-Patienten (Adipositas Grad III) einen signifikant längeren Dünndarm besitzen als Patienten ohne eine NASH (Adipositas Grad III). Auffallend ist auch, dass die Dünndarmlänge von allen viszeralchirurgischen Patienten (normalgewichtig bis Adipositas Grad III) positiv mit dem BMI korreliert ( $p < 0.01$ ). Die gemessenen Dünndarmlängen reichen hierbei von 226 bis 860 cm (Hillenbrand et al. 2015). In der vorliegenden Studie sind keine Darmerkrankungen, Funktionsstörungen bzw. die Länge des Darmes bei den Probanden bekannt, jedoch verdeutlichen die Daten von Mutanen et al. (2015) und Hillenbrand et al. (2015), dass auch die Darmfunktion eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der NAFLD spielen könnte.

Welche molekularen Mechanismen könnten den verringerten FGF-19-Spiegeln nüchtern und postprandial bei NAFLD-Probanden in unserer Studie zugrunde liegen? FGF-19 wird nach Sekretion der Gallensäuren, die an den FXR-Rezeptor im terminalen Ileum binden, sezerniert und rezirkuliert über den Portalkreislauf zur Leber (Holt et al. 2003, Kurosu und Kuro-o 2009). Die Bindung von FGF-19 an den hepatischen FGF-Rezeptor 4 bewirkt eine Suppression der Gallensäuresynthese (Song et al. 2009).

In der vorliegenden Studie etablierten wir einen neuen standardisierten oralen Fetttoleranztest (oFTT), um die Gallensäuresekretion und darauffolgende FGF-19-Expression im Ileum zu stimulieren. Vergleichbare Tests werden insbesondere zur Bestimmung der postprandialen Triglyzeridkonzentrationen eingesetzt, wobei bisher kein etabliertes Standardverfahren existiert (Mihas et al. 2011). Für die Studie wurde Calogen<sup>®</sup>, eine rein pflanzliche Fettemulsion, die zu 50% aus LCT-Fett besteht, verwendet. Die Fettbelastung erfolgte körpergewichtsbezogen (1 g Fett pro kg KG), um den oFTT dem Essverhalten der Probanden anzupassen, da adipöse NAFLD-Patienten sich meist hyperkalorisch ernähren (Kacerovsky und Roden 2007). Die Auswertung der 3-Tage-Ernährungsprotokolle der Studienprobanden bestätigt, dass die Adipösen die höchste Fettmenge in Gramm pro Tag und prozentual an der Gesamtenergiezufuhr konsumieren. Schreuder et al. (2010) verwendeten Schlagsahne, welche Cholesterin enthält. Die Fettbelastung erfolgte mit 30 g Sahne (35 g Fett pro 100 ml) pro m<sup>2</sup> Körperoberfläche. Somit war die Fettbelastung geringer als in der vorliegenden Studie, was zu einem divergierendem Ergebnis hinsichtlich der FGF-19 Spiegel beigetragen haben könnte.

In dieser Studie wurden die FGF-19-Serumkonzentrationen nüchtern, 2, 4 und 6 Stunden nach dem körpergewichtsbezogenen oFTT gemessen. Die Kontrollen weisen zu allen vier Messzeitpunkten die höchsten FGF-19-Spiegel auf, was auf eine unbeeinträchtigte intestinale FGF-19-Sekretion hinweist. Verringerte Nüchtern- und postprandiale FGF-19-Spiegel bei den NAFLD-Probanden könnten auf eine gestörte Gallensäuresekretion in den Dünndarm hindeuten, welche als Stimulus für die FGF-19-Sekretion erforderlich ist. Aktuelle Untersuchungen am gleichen Probandenkollektiv ergaben, dass sich die Gallensäurespiegel nüchtern und postprandial zwischen den NAFLD-Probanden und Kontrollen nicht signifikant unterscheiden (siehe Originalarbeit, Kapitel 8). Postprandial sind die Gallensäurekonzentrationen insgesamt bei den NAFLD-Patienten höher als bei den Kontrollen.

Folglich könnte ein Defekt der intestinalen FXR-Regulation den verringerten FGF-19-Spiegeln bei unseren NAFLD-Probanden zugrunde liegen.

Darmerkrankungen, die mit verringerten FGF-19-Spiegeln assoziiert sind (Mutanen et al. 2015), sind in unserem Probandenkollektiv nicht bekannt. Reue und Kollegen (2015) berichten, dass das kürzlich identifizierte Protein Diet1 die FGF-19-Expression im Ileum beeinflusst. Diet1 wird in erster Linie in intestinalen Epithelzellen und in spezifischen Regionen der Nierenrinde exprimiert. Der Mausstamm C57BL/6ByJ, welcher Diet1-defizient ist, hat erhöhte Serumgallensäurespiegel, eine gesteigerte fäkale Gallensäureausscheidung und reduzierte FGF-15-Spiegel. Reue und Kollegen (2015) untersuchten die Effekte von Diet1 auf die FGF-19-Expression und Sekretion in humanen Darmzelllinien. Eine gesteigerte Diet1-Expression bewirkt einen 3-fachen Anstieg des sezernierten FGF-19 wohingegen ein Diet1-Knockdown die FGF-19-Sekretion reduziert.

Erstaunlicherweise berichtet eine deutsche Forschergruppe, dass die Behandlung von humanen Enterozyten mit einem Vitamin A-Derivat (9-cis Retinoic Acid) den Retinsäurerezeptor RAR aktiviert und eine FXR-unabhängige FGF-19-Expression induziert (Jahn et al. 2015). Diese Studienergebnisse lassen vermuten, dass auch Diet1- und RAR- Mutationen oder eine Unterversorgung des fettlöslichen Vitamins A den verringerten FGF-19-Spiegeln bei unseren NAFLD-Probanden zugrunde liegen könnten. Sowohl Störungen in der intestinalen Fettresorption, so eine zu geringe Emulgierung der Fette durch Gallensäuren, als auch Medikamente und Alkohol könnten die Vitamin A-Aufnahme in die Enterozyten beeinträchtigt haben.

Die Serumkonzentrationen von C4 ( $7\alpha$ -hydroxy-4-cholesten-3-on), einem Zwischenprodukt der Gallensäuresynthese, sinken nicht bei unseren NAFLD-Probanden postprandial im Gegensatz zu den Kontrollen (siehe Originalarbeit, Kapitel 8). Dies lässt vermuten, dass bei unseren übergewichtigen und adipösen Probanden die hepatische Gallensäuresynthese nicht gehemmt wurde. Eine Ursache könnte sein, dass durch die niedrigen FGF-19-Spiegel nüchtern und zwei Stunden nach dem oFTT die Expression des Schlüsselenzyms der Gallensäuresynthese (CYP7A1) unzureichend über den endokrinen FGF-19-Signalweg unterdrückt wurde. In diesem Zusammenhang ergibt sich der Verdacht, dass auch Defekte am hepatischen FGF-Rezeptor 4, dem Kofaktor  $\beta$ -Klotho und/oder am SHP (Small Heterodimer Partner), welcher das FGF-19-Signal in der Leber weiterleitet, zur

verminderten Repression der *de novo* Gallensäuresynthese beigetragen haben. Eine „intestinale FXR-Gallensäureresistenz“ und daraus resultierende geringe FGF-19-Spiegel bei unseren übergewichtigen und adipösen NAFLD-Probanden könnten somit dazu beitragen, dass trotz ausreichender Gallensäuresekretion deren hepatische Synthese nicht unterdrückt wurde. Eine über den autokrinen Signalweg resultierende hepatische FGF-19-Expression (Chiang 2009, Schaap et al. 2009) könnte weiter erklären, warum sich die FGF-19-Spiegel 4 und 6 Stunden nach dem oFTT nicht mehr signifikant zwischen Kontrollen und NAFLD-Probanden unterscheiden. Die hepatische FGF-19-Expression wurde in unserer Studie nicht gemessen. Interessanterweise stellen aktuell Gallego-Escuredo et al. (2015) signifikant erhöhte  $\beta$ -Klotho-Spiegel (Kofaktor von FGF-19) in der Leber bei Adipösen fest. Zudem sind die FGF-19-Konzentrationen bei den Adipösen im Vergleich zu den schlanken Kontrollen signifikant verringert. Die Biopsien im subkutanen und viszeralen Fettgewebe ergaben, im Gegensatz zu den erhöhten hepatischen  $\beta$ -Klotho-Spiegeln, signifikant reduzierte  $\beta$ -Klotho-Konzentrationen. Die Autoren schlussfolgern, dass entgegengesetzte Veränderungen in der  $\beta$ -Klotho-Expression im Fettgewebe und in der Leber auf mögliche gewebespezifische Veränderungen in der Regulationsfähigkeit der endokrinen FGFs bei Adipositas hinweisen. Bereits drei Jahre zuvor berichtet die gleiche Arbeitsgruppe über signifikant reduzierte FGF-19-Serumspiegel, verminderte Expressionen des FGF-Rezeptors 1 und Kofaktors  $\beta$ -Klotho im Fettgewebe von HIV-1-Infizierten. Gallego-Escuredo et al. (2012) weisen auch in dieser Studie daraufhin, dass die verringerten FGF-19-Spiegel zu Stoffwechseleränderungen bei HIV-Patienten beitragen könnten.

Bemerkenswerterweise besteht in unserer Studie ein negativer Zusammenhang zwischen der Körperfettmasse und den Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen (Abb. 20, 21). Die  $\beta$ -Klotho-Expressionen im Fettgewebe und in der Leber wurden allerdings nicht in unserer Studie untersucht. In Mäusen werden  $\beta$ -Klotho und FGFR1c reichlich in braunem und weißem Fettgewebe exprimiert, was darauf hinweist, dass dieses Zielgewebe für FGF-19 sein könnte (Fon Tacer et al. 2010). Welche Zusammenhänge zwischen der Expression von  $\beta$ -Klotho und FGFR1c im Fettgewebe und der hepatischen  $\beta$ -Klotho- und FGF-19-Expression bestehen, müsste in weiteren Studien untersucht werden, da hierzu nur wenige Daten aktuell vorliegen.

Zum ersten Mal wurde in der vorliegenden Studie durch ein 3-Tage-Ernährungsprotokoll auch die Energie- und Nährstoffzufuhr im Zusammenhang mit den FGF-19-Serumkonzentrationen untersucht. Erstaunlicherweise besteht zwischen allen drei Gruppen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der mittleren Energie-, Kohlenhydrat-, Fett- und Eiweißzufuhr. Es gibt keine Korrelationen zwischen der Zufuhr an Gesamtenergie, Makronährstoffen, Fructose, Cholesterin, Ballaststoffen, Flüssigkeit, Alkohol und den Nüchtern-FGF-19-Spiegeln. Adipositas und NAFLD lassen sich insbesondere auf eine positive Energiebilanz zurückführen. Fehlende Protokolle sowie Underreporting der NAFLD-Probanden bei der Ernährungsdokumentation könnten unsere Ergebnisse möglicherweise beeinflusst haben. Die Fettzufuhr unterscheidet sich zwar nicht signifikant zwischen den Gruppen, ist aber insgesamt bei den Adipösen mit  $91,6 \pm 35,6$  g/Tag und  $38,5 \pm 6,2$  % an der Gesamtenergie sehr hoch. Stenman et al. (2012) berichten, dass eine fettreiche Diät bei Mäusen die intestinale Permeabilität und die FXR- und TNF-Expression im Jejunum erhöht, was gleichzeitig mit einem deutlichen Anstieg der Gallensäureproduktion verbunden ist. In diesem Zusammenhang könnte man spekulieren, ob eine langfristige fettreiche Ernährung, welche eine gesteigerte Gallensäuresekretion zur Fettabsorption erfordert, zu einem Missverhältnis zwischen intestinalen Gallensäuren und FXR-Expression und einer unzureichenden Stimulierbarkeit der FGF-19-Expression führt, sodass die hohe hepatische Lipid- und Gallensäuresynthese schließlich nicht unterdrückt werden kann. Somit könnte ein Circulus vitiosus von Fett, Gallensäuren und FGF-19 zwischen Darm und Leber entstehen, der immer mehr aus dem Gleichgewicht gerät.

Das Alter hat in der vorliegenden Studie keinen Einfluss auf die Nüchtern- und postprandialen FGF-19-Serumkonzentrationen. Ebenso berichten Stejskal et al. (2008) darüber, dass das Alter keinen Effekt auf die FGF-19-Spiegel bei gesunden Kontrollen und Patienten mit metabolischen Syndrom zeigt. Aktuell veröffentlichten Sanchis-Gomar und Kollegen (2015) eine Fall-Kontrollstudie zu mehreren Biomarkern. Interessanterweise ist hierbei FGF-19, unabhängig vom Geschlecht, mit erfolgreichem Altern assoziiert.

In unserer Studie weisen Frauen nüchtern und postprandial höhere FGF-19-Spiegel gegenüber den Männern auf. Das Geschlecht hat jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die FGF-19-Konzentrationen in der vorliegenden Untersuchung. Auch

Gälman et al. (2011) und Stejskal et al. (2008) berichten, dass die FGF-19-Spiegel nicht signifikant mit dem Geschlecht assoziiert sind.

Mit der vorliegenden Arbeit sollte die Frage beantwortet werden, welche Rolle FGF-19 bei übergewichtigen und adipösen Patienten mit NAFLD spielt. Wir etablierten hierfür einen körperrgewichtbezogenen oralen Fetttoleranztest (oFTT), der eine beeinträchtigte FGF-19-Sekretion bei übergewichtigen und adipösen NAFLD-Probanden demonstriert. Der Dünndarm besitzt aufgrund der FGF-19-Sekretion metabolische und hormonelle Funktionen. Eine verminderte gastrointestinale FGF-19-Sekretion bei Übergewicht und Adipositas könnte somit an der Pathogenese der NAFLD beteiligt sein. Hohe Nüchtern-FGF-19-Spiegel bei gesunden Kontrollen sind möglicherweise als NAFLD-protektiv zu werten. Defekte der intestinalen FGF-19-Regulation (z.B. FXR- und/oder Diet1-Varianten) und/oder interindividuelle Unterschiede in der Ileumlänge könnten den niedrigeren FGF-19-Spiegeln bei adipösen und übergewichtigen NAFLD-Patienten zugrunde liegen. Die C4-Spiegel sind bei den NAFLD-Patienten postprandial nicht vermindert, sodass die *de novo* Gallensäuresynthese vermutlich nicht unterdrückt wird. Inwiefern der hepatische Rezeptor FGFR4 und/oder sein Kofaktor  $\beta$ -Klotho an dieser gestörten hepatischen Antwort auf FGF-19 bei NAFLD beteiligt sind, sollte in weiteren funktionellen Studien untersucht werden. Außerdem könnten Zusammenhänge zwischen der Zusammensetzung der Ernährung, der Körperfettmasse (FGFR1,  $\beta$ -Klotho) und den FGF-19-Spiegeln bei unterschiedlichen NAFLD-Graden erforscht werden.

## 7 Literaturverzeichnis

- 1) Afdhal NH (2012) Fibroscan (transient elastography) for the measurement of liver fibrosis. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 8: 605-7.
- 2) Akern Srl (2012) <http://www.akern.com> (aufgesucht am 09.06.2012).
- 3) Alisi A, Ceccarelli S, Panera N, Prono F, Petrini S, De Stefanis C, Pezzullo M, Tozzi A, Villani A, Bedogni G, Nobili V (2013) Association between serum atypical fibroblast growth factors 21 and 19 and pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *PLoS One* 8: e67160.
- 4) Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JP, Lawlor DA, Fraser A (2015) The prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 10: e0140908.
- 5) Arena U, Vizzutti F, Abrales JG, Corti G, Stasi C, Moscarella S, Milani S, Lorefice E, Petrarca A, Romanelli RG, Laffi G, Bosch J, Marra F, Pinzani M (2008) Reliability of transient elastography for the diagnosis of advanced fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut* 57: 1288-93.
- 6) Arslanow A, Stokes CS, Weber SN, Grünhage F, Lammert F, Krawczyk M. (2016) The common PNPLA3 variant p.I148M is associated with liver fat contents as quantified by controlled attenuation parameter (CAP). *Liver Int* 36: 418-26.
- 7) Atwell TD, Smith RL, Hesley GK, Callstrom MR, Schleck CD, Harmsen WS, Charboneau JW, Welch TJ (2010) Incidence of bleeding after 15,181 percutaneous biopsies and the role of aspirin. *Am J Roentgenol* 194: 784-9.
- 8) Babor TF, Higgins-Biddle JC, Saunders, JB, Monteiro MG (2001) The Alcohol use disorders identification test. Guidelines for use in primary care. WHO, Department of Mental Health and Substance Dependence.
- 9) Barr J, Vázquez-Chantada M, Alonso C, Pérez-Cormenzana M, Mayo R, Galán A, Caballería J, Martín-Duce A, Tran A, Wagner C, Luka Z, Lu SC, Castro A, Le Marchand-Brustel Y, Martínez-Chantar ML, Veyrie N, Clément K, Tordjman J, Gual P, Mato JM (2010) Liquid chromatography-mass spectrometry-based parallel metabolic profiling of human and mouse model serum reveals putative biomarkers associated with the progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Proteome Res.* 9: 4501-12.
- 10) Barrera F, Azócar L, Molina H, Schalper KA, Ocares M, Liberona J, Villarroel

- L, Pimentel F, Pérez-Ayuso RM, Nervi F, Groen AK, Miquel JF (2015) Effect of cholecystectomy on bile acid synthesis and circulating levels of fibroblast growth factor 19. *Ann Hepatol* 14: 710-21.
- 11) Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S (2005) Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 42: 44-52.
  - 12) Beenken A, Mohammadi M (2009) The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov* 8: 235-53.
  - 13) Bellentani S, Marino M (2009) Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 8: S4-8.
  - 14) Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G (2010) Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 28: 155-61.
  - 15) Berghöfer A, Pischon T, Reinhold T, Apovian CM, Sharma AM, Willich SN (2008) Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. *BMC Public Health* 8: 200.
  - 16) Biesalski HK, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB. *Ernährungsmedizin: Nach dem Curriculum Ernährungsmedizin der Bundesärztekammer*. Thieme Georg Verlag, Stuttgart 2004.
  - 17) Böhlen P, Baird A, Esch F, Ling N, Gospodarowicz D (1984) Isolation and partial molecular characterization of pituitary fibroblast growth factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 5364-8.
  - 18) Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH (2004) Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 40: 1387-95.
  - 19) Browning JD, Horton JD (2004) Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J Clin Invest* 14: 147-52.
  - 20) Byrne CD, Olufadi R, Bruce KD, Cagampang FR, Ahmed MH (2009) Metabolic disturbances in non-alcoholic fatty liver disease. *Clin Sci* 116: 539-64.
  - 21) Castéra L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, Chanteloup E, Haaser M, Darriet M, Couzigou P, De Lédinghen V (2005) Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 128: 343-50.
  - 22) Chan YH (2003) *Biostatistics 101: data presentation*. Singapore Med J 44: 280-5.
  - 23) Chan YH (2003) *Biostatistics 104: correlational analysis*. Singapore Med J 44:

- 614-9.
- 24) Chiang JYL (2009) Bile acids: regulation of synthesis. *J Lipid Res* 50: 1955-66.
  - 25) Chitturi S und Farrell GC (2001) Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 21: 27-41.
  - 26) Choi M, Moschetta A, Bookout AL, Peng L, Umetani M, Holmstrom SR, Suino-Powell K, Xu HE, Richardson JA, Gerard RD, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA (2006) Identification of a hormonal basis for gallbladder filling. *Nat Med* 12: 1253-5.
  - 27) Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH (2011) Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 332: 1519-23.
  - 28) Dancygier H (2009) Nichtalkoholische Fettlebererkrankungen. *Arzneimitteltherapie* 27: 115-22.
  - 29) Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) e.V. Ernährungsbericht 1992. Frankfurt a.M.
  - 30) Desnoyers LR, Pai R, Ferrando RE, Hötzel K, Le T, Ross J, Carano R, D'Souza A, Qing J, Mohtashemi I, Ashkenazi A, French DM (2008) Targeting FGF19 inhibits tumor growth in colon cancer xenograft and FGF19 transgenic hepatocellular carcinoma models. *Oncogene* 27: 85-97.
  - 31) Dostálová I, Kaválková P, Haluzíková D, Lacinová Z, Mráz M, Papezová H, Haluzík M (2008) Plasma concentrations of fibroblast growth factors 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 3627-32.
  - 32) Dumas ME, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, Fearnside J, Tatoud R, Blanc V, Lindon JC, Mitchell SC, Holmes E, McCarthy MI, Scott J, Gauguier D, Nicholson JK (2006) Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:12511-6.
  - 33) Durovcová V, Marek J, Hána V, Matoulek M, Zikán V, Haluzíková D, Kaválková P, Lacinová Z, Krsek M, Haluzík M (2010) Plasma concentrations of fibroblast growth factors 21 and 19 in patients with Cushing's syndrome. *Physiol Res* 59: 415-22.
  - 34) Eren F, Kurt R, Ermis F, Atug O, Imeryuz N, Yilmaz Y (2012) Preliminary evidence of a reduced serum level of fibroblast growth factor 19 in patients with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Biochem* 45: 655-8.
  - 35) Faeh D, Minehira K, Schwarz JM, Periasamy R, Park S, Tappy L (2005) Effect

- of fructose overfeeding and fish oil administration on hepatic de novo lipogenesis and insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes* 54: 1907-13.
- 36) Fang Q, Li H, Song Q, Yang W, Hou X, Ma X, Lu J, Xu A, Jia W (2013) Serum fibroblast growth factor 19 levels are decreased in Chinese subjects with impaired fasting glucose and inversely associated with fasting plasma glucose levels. *Diabetes Care* 36: 2810-4.
  - 37) Filipovic B, Kovcevic N, Randjelovic T, Kostic S, Filipovic B (2011) Nutritional status in hospitalized patients in the department of gastroenterohepatology. *Hepatogastroenterology* 58: 1229-34.
  - 38) Fon Tacer K, Bookout AL, Ding X, Kurosu H, John GB, Wang L, Goetz R, Mohammadi M, Kuro-o M, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA (2010) Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. *Mol Endocrinol* 24: 2050-64.
  - 39) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18: 499-502.
  - 40) Friedrich-Rust M, Zeuzem S (2007) Transient elastography (FibroScan) for the non-invasive assessment of liver fibrosis: current status and perspectives. *Z Gastroenterol* 45: 387-94.
  - 41) Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, Herrmann E (2008) Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 134: 960-74.
  - 42) Fu L, John LM, Adams SH, Yu XX, Tomlinson E, Renz M, Williams PM, Soriano R, Corpuz R, Moffat B, Vandlen R, Simmons L, Foster J, Stephan JP, Tsai SP, Stewart TA (2004) Fibroblast growth factor 19 increases metabolic rate and reverses dietary and leptin-deficient diabetes. *Endocrinology* 145: 2594-603.
  - 43) Fukumoto S (2008) Actions and mode of FGF19 subfamily members. *Endocr J* 55: 23-31.
  - 44) Gallego-Escuredo JM, Domingo P, Gutiérrez Mdel M, Mateo MG, Cabeza MC, Fontanet A, Vidal F, Domingo JC, Giralt M, Villarroya F (2012) Reduced levels of serum FGF19 and impaired expression of receptors for endocrine FGFs in adipose tissue from HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 61: 527-34.
  - 45) Gallego-Escuredo JM, Gómez-Ambrosi J, Catalan V, Domingo P, Giralt M,

- Frühbeck G, Villarroya F (2015) Opposite alterations in FGF21 and FGF19 levels and disturbed expression of the receptor machinery for endocrine FGFs in obese patients. *Int J Obes (Lond)* 39: 121-29.
- 46) Gälman C, Angelin B, Rudling M (2011) Pronounced variation in bile acid synthesis in humans is related to gender, hypertriglyceridaemia and circulating levels of fibroblast growth factor 19. *J Intern Med* 270: 580-8.
- 47) Gentile CL, Pagliassotti MJ (2008) The role of fatty acids in the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *J Nutr Biochem* 19: 567-76.
- 48) Haidari M, Leung N, Mahbub F, Uffelmann KD, Kohen-Avramoglu R, Lewis GF, Adeli K (2002) Fasting and postprandial overproduction of intestinally derived lipoproteins in an animal model of insulin resistance. Evidence that chronic fructose feeding in the hamster is accompanied by enhanced intestinal de novo lipogenesis and ApoB48-containing lipoprotein overproduction. *J Biol Chem* 277: 31646-55.
- 49) Hashimoto E, Tokushige K (2011) Prevalence, gender, ethnic variations, and prognosis of NASH. *J Gastroenterol* 46: 63-9.
- 50) Heydari ST, Ayatollahi SM, Zare N (2011) Diagnostic value of bioelectrical impedance analysis versus body mass index for detection of obesity among students. *Asian J Sports Med* 2: 68-74.
- 51) Hillenbrand A, Kiebler B, Schwab C, Scheja L, Xu P, Henne-Bruns D, Wolf AM, Knippschild U (2015) Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in four different weight related patient groups: association with small bowel length and risk factors *BMC Res Notes* 8: 290.
- 52) Holt JA, Luo G, Billin AN, Bisi J, McNeill YY, Kozarsky KF, Donahee M, Wang DY, Mansfield TA, Kliewer SA, Goodwin B, Jones SA (2003) Definition of novel growth factor-dependent signal cascade for the suppression of bile acid biosynthesis. *Genes Dev* 17: 1581-91.
- 53) Hsuchou H, Pan W, Kastin AJ (2013) Fibroblast growth factor 19 entry into brain. *Fluids Barriers CNS* 10: 32.
- 54) Inagaki T, Choi M, Moschetta A, Peng L, Cummins CL, McDonald JG, Luo G, Jones SA, Goodwin B, Richardson JA, Gerard RD, Repa JJ, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA (2005) Fibroblast growth factor 15 functions as an enterohepatic signal to regulate bile acid homeostasis. *Cell Metab* 2: 217-25.
- 55) Itoh N, Ornitz DM (2004) Evolution of the Fgf and Fgfr gene families. *Trends*

- Genet 20: 563-9.
- 56) Itoh N (2010) Hormon-like (endocrine) Fgfs: their evolutionary history and roles in development, metabolism, and disease. *Cell Tissue Res* 342: 1-11.
  - 57) Jahn D, Sutor D, Schmitt J, Hermanns HM, Geier A (2015) Vitamin A derivatives regulate fibroblast growth factor 19 expression in human enterocytes. *Z Gastroenterol* 53 (9): G3.
  - 58) Jansen PL, van Werven J, Aarts E, Berends F, Janssen I, Stoker J, Schaap FG (2011) Alteration of hormonally active fibroblast growth factors after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *Dig Dis* 29: 48-51.
  - 59) Jones S (2007) Mini-review: endocrine actions of fibroblast growth factor 19. *Mol Pharm* 5: 42-8.
  - 60) Jornayvaz F R, Samuel V T, Shulman G I (2010) The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome. *Annu Rev Nutr* 21: 273-90.
  - 61) Kacerovsky M, Roden M (2007) Nichtalkoholische Fettleber. *Der Diabetologe* 3: 176-83.
  - 62) Kalhan SC, Guo L, Edmison J, Dasarathy S, McCullough AJ, Hanson RW, Milburn M. (2011) Plasma metabolomic profile in nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* 60: 404-13.
  - 63) Kharitonov A (2009) FGFs and metabolism. *Curr Opin Pharmacol* 9: 805-10.
  - 64) Kir S, Beddow SA, Samuel VT, Miller P, Previs SF, Suino-Powell K, Xu HE, Shulman GI, Kliewer SA, Mangelsdorf DJ (2011) FGF19 as a postprandial, insulin-independent activator of hepatic protein and glycogen synthesis. *Science* 331: 1621-4.
  - 65) Kirovski G, Schacherer D, Wobser H, Huber H, Niessen C, Beer C, Schölmerich J, Hellerbrand C (2010) Prevalence of ultrasound-diagnosed non-alcoholic fatty liver disease in a hospital cohort and its association with anthropometric, biochemical and sonographic characteristics. *Int J Clin Exp Med* 3: 202-10.
  - 66) Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, Ferrell LD, Liu YC, Torbenson MS, Unalp-Arida A, Yeh M, McCullough AJ, Sanyal AJ (2005) Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease *Hepatology* 41: 1313-21.

- 67) Kong B, Huang J, Zhu Y, Li G, Williams J, Shen S, Aleksunes LM, Richardson JR, Apte U, Rudnick DA, Guo GL (2014) Fibroblast growth factor 15 deficiency impairs liver regeneration in mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 306: G893-902.
- 68) Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P (2010) Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 24: 695-708.
- 69) Krawczyk M, Liebe R, Maier IB, Engstler AJ, Lammert F, Bergheim I (2015) The frequent Adiponutrin (PNPLA3) variant p.Ile148Met is associated with early liver injury: analysis of a german pediatric cohort. *Gastroenterol Res Pract* 2015: 205079.
- 70) Kumari M, Schoiswohl G, Chitraju C, Paar M, Cornaciu I, Rangrez AY, Wongsiriroj N, Nagy HM, Ivanova PT, Scott SA, Knittelfelder O, Rechberger GN, Birner-Gruenberger R, Eder S, Brown HA, Haemmerle G, Oberer M, Lass A, Kershaw EE, Zimmermann R, Zechner R (2012) Adiponutrin functions as a nutritionally regulated lysophosphatidic acid acyltransferase. *Cell Metab* 15: 691-702.
- 71) Kuro-o M (2012) Klotho and  $\beta$ Klotho. *Adv Exp Med Biol* 728: 25-40.
- 72) Kurosu H, Kuro-o M (2009) The Klotho gene family as a regulator of endocrine fibroblast growth factors. *Mol Cell Endocrinol* 299: 72-8.
- 73) Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI (2006) Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 444: 1022-3.
- 74) Lewis JR, Mohanty SR (2010) Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. *Dig Dis Sci* 55: 560-78.
- 75) Li Y, Xing C, Cohen JC, Hobbs HH (2012) Genetic variant in PNPLA3 is associated with nonalcoholic fatty liver disease in China. *Hepatology* 55: 327-8.
- 76) Lörke J, Erhardt A, Vogt C, Häussinger D (2007) Nicht invasive Diagnostik der Leberzirrhose. *Dtsch Arztebl* 104: A 1752-7.
- 77) Lundåsen T, Gälman C, Angelin B, Rudling M (2006) Circulating intestinal fibroblast growth factor 19 has a pronounced diurnal variation and modulates hepatic bile acid synthesis in man. *J Intern Med* 260: 530-6.
- 78) Luo J, Ko B, Elliott M, Zhou M, Lindhout DA, Phung V, To C, Learned RM, Tian H, DePaoli AM, Ling L (2014) A nontumorigenic variant of FGF19 treats cholestatic liver diseases. *Sci Transl Med* 6: 247ra100.

- 79) Matsubara T, Li F, Gonzalez FJ (2013) FXR signaling in the enterohepatic system. *Mol Cell Endocrinol* 368: 17-29.
- 80) Mc Devitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM (2001) De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. *Am J Clin Nutr* 74: 737-46.
- 81) MEDICAL Health Care GmbH (2012) <http://www.medi-cal.de/produkte/elektr-messung.php> (aufgesucht am 03.12.2012).
- 82) Mensink GB, Schienkiewitz A, Haftenberger M, Lampert T, Ziese T, Scheidt-Nave C (2013) Overweight and obesity in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 56: 786-94.
- 83) Mihas C, Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, Perez-Martinez P, Bilianou H, Anagnostopoulou K, Panotopoulos G (2011) Diagnostic value of postprandial triglyceride testing in healthy subjects: a meta-analysis. *Curr Vasc Pharmacol* 9: 271-80.
- 84) Mráz M, Lacinová Z, Kaválková P, Haluzíková D, Trachta P, Drápalová J, Hanušová V, Haluzík M (2011) Serum concentrations of fibroblast growth factor 19 in patients with obesity and type 2 diabetes mellitus: the influence of acute hyperinsulinemia, very-low calorie diet and PPAR-alpha agonist treatment. *Physiol Res* 60: 627-36.
- 85) Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, Fagà E, Silli B, Pagano G (2003) Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 37: 909-16.
- 86) Mutanen A, Lohi J, Heikkilä P, Jalanko H, Pakarinen MP (2015) Loss of ileum decreases serum fibroblast growth factor 19 in relation to liver inflammation and fibrosis in pediatric onset intestinal failure. *J Hepatol* 62: 1391-7.
- 87) Nicholes K, Guillet S, Tomlinson E, Hillan K, Wright B, Frantz GD, Pham TA, Dillard-Telm L, Tsai SP, Stephan JP, Stinson J, Stewart T, French DM (2002) A mouse model of hepatocellular carcinoma: ectopic expression of fibroblast growth factor 19 in skeletal muscle of transgenic mice. *Am J Pathol* 160: 2295-307.

- 88) Nishimura T, Utsunomiya Y, Hoshikawa M, Ohuchi H, Itoh N (1999) Structure and expression of a novel human FGF, FGF-19, expressed in the fetal brain. *Biochim Biophys Acta* 1444: 148-51.
- 89) Nolan JD, Johnston IM, Pattni SS, Dew T, Orchard TR, Walters JR (2015) Diarrhea in Crohn's disease: investigating the role of the ileal hormone fibroblast growth factor 19. *J Crohns Colitis* 9: 125-31.
- 90) NUTRICIA GmbH. [http://www.nutricia.de/productpdf/PN\\_Calogen\\_20006.pdf](http://www.nutricia.de/productpdf/PN_Calogen_20006.pdf) (aufgesucht am 09.06.2012).
- 91) Ogden CL, Carroll MD, Fryar CD, Flegal KM (2015) Prevalence of obesity among adults and youth: United States, 2011-2014. *NCHS Data Brief* 219:1-8.
- 92) Ornitz DM, Itoh N (2001) Fibroblast growth factors. *Genome Biol* 2: reviews3005.1-reviews3005.12.
- 93) Owen BM, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA (2015) Tissue-specific actions of the metabolic hormones FGF15/19 and FGF21. *Trends Endocrinol Metab* 26: 22-9.
- 94) Paiva SI, Borges LR, Halpern-Silveira D, Assunção MC, Barros AJ, Gonzalez MC (2010) Standardized phase angle from bioelectrical impedance analysis as prognostic factor for survival in patients with cancer. *Support Care Cancer* 19: 187-92.
- 95) Paradis V, Bedossa P (2008) Definition and natural history of metabolic steatosis: histology and cellular aspects. *Diabetes Metab* 34: 638-42.
- 96) Park YJ, Lim JH, Kwon ER, Kim HK, Jung MC, Seol KH, Noh WY, Kim NE (2011) Development and validation of a simple index system to predict nonalcoholic fatty liver disease. *Korean J Hepatol* 17: 19-26.
- 97) Pattni SS, Brydon WG, Dew T, Walters JR (2012) Fibroblast Growth Factor 19 and 7 $\alpha$ -Hydroxy-4-Cholesten-3-one in the Diagnosis of Patients With Possible Bile Acid Diarrhea. *Clin Transl Gastroenterol* 3: e18.
- 98) Pirlich M, Krüger A, Lochs H (2000) BIA-Verlaufsuntersuchungen: Grenzen und Fehlermöglichkeiten. *Aktuel Ernähr Med* 25: 64-9.
- 99) Pirlich M, Schwenk A, Müller MJ (2003) DGEM-Leitlinie Enterale Ernährung: Ernährungsstatus. *Aktuel Ernähr Med* 28 (Suppl1): S10-S25.
- 100) Postic C, Girard J (2008) Contribution of de novo fatty acid synthesis to hepatic steatosis and insulin resistance: lessons from genetically engineered mice. *J Clin Invest* 118: 829-38.

- 101) Postic C, Girard J (2008) The role of the lipogenic pathway in the development of hepatic steatosis. *Diabetes Metab* 34: 643-8.
- 102) Qureshi K, Abrams GA (2007) Metabolic liver disease of obesity and role of adipose tissue in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 13: 3540-53.
- 103) Ratziu V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, Day C, Marchesini G (2010) A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol* 53: 372-84.
- 104) R&D Systems, Quantikine<sup>®</sup>, Human FGF-19. For the quantitative determination of human fibroblast growth factor 19 (FGF-19) concentrations in cell culture supernates, serum and plasma.
- 105) Reue K, Lee JM, Vergnes L (2015) Diet1 is a regulator of fibroblast growth factor 15/19-dependent bile acid synthesis. *Dig Dis* 33: 307-13.
- 106) Ricciardi R, Talbot LA (2007) Use of bioelectrical impedance analysis in the evaluation, treatment, and prevention of overweight and obesity. *J Am Acad Nurse Pract* 19: 235-41.
- 107) Roeb E, Steffen HM, Bantel H, Baumann U, Canbay A, Demir M, Drebber U, Geier A, Hampe J, Hellerbrand C, Pathil-Warth A, Schattenberg JM, Schramm C, Seitz HK, Stefan N, Tacke F, Tannapfel A, Lynen Jansen P, Bojunga J (2015) S2k-Leitlinie nicht alkoholische Fettlebererkrankungen. *Z Gastroenterol* 53: 668-723.
- 108) Roesch SL, Styer AM, Wood GC, Kosak Z, Seiler J, Benotti P, Petrick AT, Gabrielsen J, Strodel WE, Gerhard GS, Still CD, Argyropoulos G (2015) Perturbations of fibroblast growth factors 19 and 21 in type 2 diabetes. *PLoS One* 10: e0116928.
- 109) Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH (2008) Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 40: 1461-5.
- 110) Roulot D, Czernichow S, Le Clésiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M (2008) Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol* 48: 606-13.
- 111) Ryan KK, Kohli R, Gutierrez-Aguilar R, Gaitonde SG, Woods SC, Seeley RJ (2013) Fibroblast growth factor-19 action in the brain reduces food intake and body weight and improves glucose tolerance in male rats. *Endocrinology* 154: 9-15.

- 112) Sachdev S, Wang Q, Billington C, Connett J, Ahmed L, Inabnet W, Chua S, Ikramuddin S, Korner J (2015) FGF 19 and bile acids increase following Roux-en-Y gastric bypass but not after medical management in patients with type 2 diabetes. *Obes Surg* 26: 957-65.
- 113) Sanchis-Gomar F, Pareja-Galeano H, Santos-Lozano A, Garatachea N, Fiuza-Luces C, Venturini L, Ricevuti G, Lucia A, Emanuele E (2015) A preliminary candidate approach identifies the combination of chemerin, fetuin-A, and fibroblast growth factors 19 and 21 as a potential biomarker panel of successful aging. *Age (Dordr)* 37: 9776.
- 114) Sasso M, Miette V, Sandrin L, Beaugrand M (2012) The controlled attenuation parameter (CAP): a novel tool for the non-invasive evaluation of steatosis using Fibroscan. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 36: 13-20.
- 115) Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD (1986) Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292: 13-15.
- 116) Sawey ET, Chanrion M, Cai C, Wu G, Zhang J, Zender L, Zhao A, Busuttill RW, Yee H, Stein L, French DM, Finn RS, Lowe SW, Powers S (2011) Identification of a therapeutic strategy targeting amplified FGF19 in liver cancer by Oncogenomic screening. *Cancer Cell* 19: 347-58.
- 117) Schaap FG, van der Gaag NA, Gouma DJ, Jansen PL (2009) High expression of the bile salt-homeostatic hormone fibroblast growth factor 19 in the liver of patients with extrahepatic cholestasis. *Hepatology* 49: 1228-35.
- 118) Schmid A, Leszczak S, Ober I, Karrasch T, Schäffler A (2015) Short-term and divergent regulation of FGF-19 and FGF-21 during oral lipid tolerance test but not oral glucose tolerance test. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 123: 88-94.
- 119) Schreuder TC, Marsman HA, Lenicek M, van Werven JR, Nederveen AJ, Jansen PL, Schaap FG (2010) The hepatic response to FGF19 is impaired in patients with nonalcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 298: G440-G5.
- 120) Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F (2009) Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol* 51: 433-45.
- 121) Shimizu M, Morimoto H, Maruyama R, Inoue J, Sato R (2015) Selective regulation of FGF19 and FGF21 expression by cellular and nutritional stress. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 61: 154-60.

- 122) Song KH, Li T, Owsley E, Strom S, Chiang JY (2009) Bile acids activate fibroblast growth factor 19 signaling in human hepatocytes to inhibit cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase gene expression. *Hepatology* 49: 297-305.
- 123) Speliotes EK, Yerges-Armstrong LM, Wu J, Hernaez R, Kim LJ, Palmer CD, Gudnason V, Eiriksdottir G, Garcia ME, Launer LJ, Nalls MA, Clark JM, Mitchell BD, Shuldiner AR, Butler JL, Tomas M, Hoffmann U, Hwang SJ, Massaro JM, O'Donnell CJ, Sahani DV, Salomaa V, Schadt EE, Schwartz SM, Siscovick DS; NASH CRN; GIANT Consortium; MAGIC Investigators, Voight BF, Carr JJ, Feitosa MF, Harris TB, Fox CS, Smith AV, Kao WH, Hirschhorn JN, Borecki IB; GOLD Consortium (2011) Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS Genet* 7: e1001324.
- 124) Stanhope KL, Schwarz JM, Keim NL, Griffen SC, Bremer AA, Graham JL, Hatcher B, Cox CL, Dyachenko A, Zhang W, McGahan JP, Seibert A, Krauss RM, Chiu S, Schaefer EJ, Ai M, Otokoza S, Nakajima K, Nakano T, Beysen C, Hellerstein MK, Berglund L, Havel PJ (2009) Consuming fructose-sweetened, not glucose-sweetened, beverages increases visceral adiposity and lipids and decreases insulin sensitivity in overweight/obese humans. *J Clin Invest* 119: 1322-34.
- 125) Stejskal D, Karpíšek M, Hanulová Z, Stejskal P (2008) Fibroblast growth factor-19: Development, analytical characterization and clinical evaluation of a new ELISA test. *Scand J Clin Lab Invest* 68: 501-7.
- 126) Stenman LK, Holma R, Korpela R (2012) High-fat-induced intestinal permeability dysfunction associated with altered fecal bile acids. *World J Gastroenterol* 18: 923-9.
- 127) Sung KC, Kim SH (2011) Interrelationship between fatty liver and insulin resistance in the development of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 96: 1093-7.
- 128) Tamura S, Shimomura I (2005) Contribution of adipose tissue and de novo lipogenesis to nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest* 115: 1139-42.
- 129) Terjung B, Lemnitzer I, Dumoulin FL, Effenberger W, Brackmann HH, Sauerbruch T, Spengler U (2003) Bleeding complications after percutaneous liver biopsy. An analysis of risk factors. *Digestion* 67: 138-45.

- 130) Thomas KA, Rios-Candelore M, Fitzpatrick S (1983) Purification and characterization of acidic fibroblast growth factor from bovine brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81: 357-61.
- 131) Tomlinson E, Fu L, John L, Hultgren B, Huang X, Renz M, Stephan JP, Tsai SP, Powell-Braxton L, French D, Stewart TA (2002) Transgenic mice expressing human fibroblast growth factor-19 display increased metabolic rate and decreased adiposity. *Endocrinology* 143: 1741-7.
- 132) Van der Poorten D, Milner KL, Hui J, Hodge A, Trenell MI, Kench JG, London R, Peduto T, Chisholm DJ, George J (2008) Visceral fat: a key mediator of steatohepatitis in metabolic liver disease. *Hepatology* 48: 449-57.
- 133) Van Herpen NA, Schrauwen-Hinderling VB, Schaart G, Mensink RP, Schrauwen P (2011) Three weeks on a high-fat diet increases intrahepatic lipid accumulation and decreases metabolic flexibility in healthy overweight men. *J Clin Endocrinol Metab* 96: E691-5.
- 134) Walters JR, Appleby RN (2015) A variant of FGF19 for treatment of disorders of cholestasis and bile acid metabolism. *Ann Transl Med* 3 (Suppl 1): S7.
- 135) WHO (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 894: i-xii, 1-253.
- 136) Wojcik M, Janus D, Dolezal-Oltarzewska K, Kalicka-Kasperczyk A, Poplawska K, Drozd D, Sztefko K, Starzyk JB (2012) A decrease in fasting FGF19 levels is associated with the development of non-alcoholic fatty liver disease in obese adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 25: 1089-93.
- 137) Wree A, Kahraman A, Gerken G, Canbay A (2011) Obesity affects the liver—the link between adipocytes and hepatocytes. *Digestion* 83: 124-33.
- 138) Wu X, Ge H, Baribault H, Gupte J, Weiszmann J, Lemon B, Gardner J, Fordstrom P, Tang J, Zhou M, Wang M, Li Y (2013) Dual actions of fibroblast growth factor 19 on lipid metabolism. *J Lipid Res* 54: 325-32.
- 139) Wunsch E, Milkiewicz M, Wasik U, Trottier J, Kempieńska-Podhorodecka A, Elias E, Barbier O, Milkiewicz P (2015) Expression of hepatic Fibroblast Growth Factor 19 is enhanced in Primary Biliary Cirrhosis and correlates with severity of the disease. *Sci Rep* 5: 13462.
- 140) Xie MH, Holcomb I, Deuel B, Dowd P, Huang A, Vagts A, Foster J, Liang J, Brush J, Gu Q, Hillan K, Goddard A, Gurney AL (1999) FGF-19, a novel fibroblast growth factor with unique specificity for FGFR4. *Cytokine* 11: 729-35.

- 141) Zauner C, Zauner A, Assi R, Brunner P, Grafl E, Hofstätter E, Kleinberger M, Lindner B, Putz C, Roszuczky N, Sasko V, Sulyok I (2007) NASH- Diagnostik und Therapie: eine Übersicht. *J Gastroenterol Hepatol Erkr* 5: 12-6.
- 142) Zhang JH, Nolan JD, Kennie SL, Johnston IM, Dew T, Dixon PH, Williamson C, Walters JR (2013) Potent stimulation of fibroblast growth factor 19 expression in the human ileum by bile acids. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 304: G940-8.

## 8 Eigene Arbeiten zum Thema NAFLD und FGF-19

### Abstracts

- 1) Friedrich D, Lammert F (2010) Die Bedeutung des gastrointestinalen Hormons Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) in der Pathogenese der nicht alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD). *Aktuel Ernährungsmed* 3: 35 - P4\_16.
- 2) Friedrich D, Lammert F (2010) Postprandiale Regulation des gastrointestinalen Hormons Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) bei Patienten mit nicht alkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD) und Adipositas. *Z Gastroenterol* 8: 48 - P304.
- 3) Friedrich D, Lammert F (2010) The role of the novel intestinal hormone, fibroblast growth factor 19 (FGF-19), in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Hepatology* 52; N4 (Suppl), A 687.
- 4) Friedrich D, Lammert F (2011) Fibroblast Growth Factor 19 (FGF-19) - Verringerte postprandiale Serumspiegel bei nicht adipösen Patienten mit nicht alkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD). *Z Gastroenterol* 1: 49 - P2\_23.
- 5) Friedrich D, Lammert F (2011) Decreased postprandial FGF-19 serum levels in non-obese NAFLD patients. *J Hepatol* 54 (Suppl 1), S336.
- 6) Friedrich D, Marschall HU, Lammert F (2012) Impaired FGF-19 release and hepatic FGF-19 resistance in overweight and obese patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Z Gastroenterol* 1: 50 - P3\_10.
- 7) Friedrich D, Lammert F (2012) Einfluss von Ernährung, Body Mass Index, Körperfettmasse, Alter und Geschlecht auf Nüchtern-FGF-19-Serumkonzentrationen bei übergewichtigen und adipösen Patienten mit nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD). *Z Gastroenterol* 8: 50 - V39.
- 8) Friedrich D, Schneider J, Lammert F (2012) Orale Fetttoleranztest (oFTT) als Intervention bei übergewichtigen und adipösen Patienten mit nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD). *Z Gastroenterol* 8: 50 - V38.
- 9) Friedrich D, Marschall HU, Lammert F (2012) Failure to Down-regulate Bile Acid Synthesis in Overweight and Obese NAFLD Patients with Impaired Intestinal FGF19 Release. *Hepatology* 56; N4 (Suppl), A 886.

- 10) Friedrich D, Stokes C, Lammert F (2012) Influence of dietary intake, body mass index, body fat mass, age and gender on basal FGF-19 serum concentrations in overweight and obese NAFLD patients. *Hepatology* 56; N4 (Suppl), A 890.
- 11) Friedrich D, Marschall HU, Lammert F (2013) Gestörte postprandiale Regulation der Gallensäurensynthese bei NAFLD-Patienten mit verringerter intestinaler FGF-19-Sekretion. *Z Gastroenterol* 51 (8): 907.
- 12) Friedrich D, Luetjohann D, Lammert F, Reichel C (2013) Ileocecal resection (ICR) in patients with Crohn´s disease is associated with lower FGF19 and higher 7 $\alpha$ -OH-cholesterol levels in comparison to ulcerative colitis. *Hepatology* 58; N4 (Suppl), A 288.

## Originalarbeiten

- 1) Friedrich D, Marschall H-U, Lammert F (2016) Postprandial response of fibroblast growth factor 19 and bile acid synthesis after oral fat tolerance test in NAFLD: a non-randomized controlled pilot trial. in Vorbereitung.
- 2) Friedrich D, Weber S, Lütjohann D, Lammert F, Reichel C (2016) ICR in patients with CD is associated with lower FGF19 and higher 7 $\alpha$ -OH-cholesterol concentrations in comparison to UC. in Vorbereitung.

## Vorträge

- 3) Friedrich D, Marschall H-U, Lammert F (2011) Disturbed hepatic response to FGF-19 in overweight and obese patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). AASLD The Liver Meeting. San Francisco.
- 4) Fachnahes Doktorandenprogramm der Universität des Saarlandes Molekulare Determinanten hormoneller Signalwege (MDhS) (2012) Disturbed hepatic response to FGF-19 in overweight and obese patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). UKS Homburg.
- 5) Friedrich D, Schneider J, Lammert F (2012) Oraler Fetttoleranztest (oFTT) als Intervention bei übergewichtigen und adipösen Patienten mit

nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD). DGVS Jahrestagung. Hamburg.

- 6) Friedrich D, Marschall HU, Lammert F (2013) Gestörte postprandiale Regulation der Gallensäurensynthese bei NAFLD-Patienten mit verringerter intestinaler FGF-19-Sekretion. DGVS Jahrestagung. Nürnberg

## Danksagung

Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert danke ich für die Möglichkeit zu einem medizinischen Thema, wofür er mich stark begeistern konnte, zu promovieren. Ich danke ihm insbesondere für seine fachliche Unterstützung und sein Vertrauen in meine wissenschaftlichen Fähigkeiten, was mir zusätzlich Kongressteilnahmen zur Veröffentlichung meiner Studienergebnisse ermöglicht hat. Ohne seine Unterstützung wäre mein Vortrag beim AASLD-Liver Meeting 2011 in San Fransisco nicht möglich gewesen.

Bei Prof. Dr. med. Hanns-Ulrich Marschall bedanke ich mich speziell für die Bestimmungen von Gallensäuren und C4.

Des Weiteren geht mein Dank an das Team der Blutentnahme, an die Mitarbeiter des Labors der Klinik für Innere Medizin II sowie an alle Probanden, die sich für diese Arbeit zur Verfügung gestellt haben.

Ich danke allen Kolleginnen und Kollegen der Abteilung, die mich während meiner Promotionszeit unterstützt haben.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Dr. Ong und Herrn Schöpe für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Mein Dank geht auch an meine Freunde Abdo, Andrea, Benjamin, Kathrin, Marco, Petra, Sophie und Uwe.

Meinen Eltern danke ich ganz besonders, dass sie mir mein Studium der Ökotrophologie ermöglicht haben sowie für ihre Motivationsschübe aus der Heimat, um mein berufliches Ziel nicht aus den Augen zu verlieren.

