

Aus der Klinik für Innere Medizin II  
des Universitätsklinikums des Saarlandes  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Frank Lammert

**DISSERTATION**  
**GLP-1 Agonisten- und SGLT-2 Inhibitoren-Therapie bei**  
**Patienten mit nicht alkoholischer Fettlebererkrankung**  
**und Diabetes mellitus Typ 2**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)  
der Medizinischen Fakultät der  
Universität des Saarlandes

vorgelegt von  
Vasiliki Mittag-Roussou  
geboren am 03.05.1981 in Athen  
2020

Tag der Promotion: 11.03.2021  
Dekan: Prof. Dr. M. D. Menger  
Berichterstatter: Prof. F. Lammert  
Prof. V. Flockerzi  
Betreuerin: Prof. Dr. Caroline S. Stokes

Meinen Kindern:  
Giota und Anna

Meiner Lehrerin:  
Chara Kastrinaki

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>6</b>
<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>8</b>
<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>8</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>9</b>
<b>1.1 DEUTSCHE ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>9</b>
1.1.1 EINLEITUNG	9
1.1.2 PATIENTEN UND METHODEN	9
1.1.3 ERGEBNISSE	9
1.1.4 SCHLUSSFOLGERUNGEN	10
<b>1.2 ENGLISCHE ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>11</b>
1.2.1 INTRODUCTION AND AIM	11
1.2.2 PATIENTS AND METHODS	11
1.2.3 RESULTS	11
1.2.4 CONCLUSIONS	12
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>13</b>
<b>2.1 NAFLD: DEFINITION, PRÄVALENZ UND RISIKOFAKTOREN</b>	<b>13</b>
2.1.1 DIABETES MELLITUS TYP 2 (PRÄVALENZ UND KLASSIFIKATION)	14
<b>2.2 NAFLD: PATHOGENESE</b>	<b>15</b>
2.2.1 NAFLD UND GENETIK	17
<b>2.3 NAFLD: SCREENING &amp; DIAGNOSTIK</b>	<b>18</b>
2.3.1 LEBERBIOPSIE	18
2.3.2 BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNGEN UND SERUM BIOMARKER	18
2.3.3 BILDGEBENDE DIAGNOSTIK	19
2.3.4 FIBROSCAN (TRANSIENTE ELASTOGRAPHIE, CAP-MESSUNG)	20
<b>2.4 NAFLD-THERAPIE</b>	<b>22</b>
<b>2.5 GLP-1 AGONISTEN &amp; SGLT-2 INHIBITOREN</b>	<b>23</b>
<b>2.6 ZIELE UND HYPOTHESEN</b>	<b>24</b>
<b>3. PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>25</b>
<b>3.1 STUDIENDESIGN</b>	<b>25</b>
<b>3.2 STUDIENTEILNEHMER</b>	<b>25</b>
<b>3.3 EINSCHLUSSKRITERIEN</b>	<b>26</b>
<b>3.4 AUSSCHLUSSKRITERIEN</b>	<b>26</b>
<b>3.5 STUDIENABLAUF UND ZEITPLANUNG</b>	<b>27</b>
3.5.1 SCREENING (BASELINE)	27
3.5.2 VERLAUFSKONTROLLEN	27
<b>3.6 BEGLEITMEDIKATION</b>	<b>28</b>
<b>3.7 BEURTEILUNG DER COMPLIANCE</b>	<b>28</b>
<b>3.8 BIOCHEMISCHE ANALYSE</b>	<b>28</b>
3.8.1 KONTROLLE DES DIABETES MELLITUS	29
3.8.2 HOMA-IR	29
<b>3.9 BEURTEILUNG DES LEBERFETTGEHALTS (CAP-MESSUNG)</b>	<b>29</b>
<b>3.10 BEURTEILUNG DER KÖRPERZUSAMMENSETZUNG (BIA-MESSUNG)</b>	<b>30</b>
<b>3.11 METABOLISCHES SYNDROM</b>	<b>30</b>
<b>3.12 BEURTEILUNG DES ALKOHOLKONSUMS</b>	<b>31</b>

<b>3.13 STATISTISCHE ANALYSE</b>	<b>31</b>
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>32</b>
<b>4.1 PATIENTENCHARAKTERISTIKA</b>	<b>32</b>
<b>4.2 LEBER-ASSOZIIERTE VERÄNDERUNGEN</b>	<b>35</b>
<b>4.3 ÄNDERUNGEN VON KÖRPERZUSAMMENSETZUNG UND METABOLISCHEN PARAMETERN</b>	<b>36</b>
<b>4.4 HEPATISCHE EFFEKTE DER GLP-1 AGONISTEN UND SGLT-2 INHIBITOREN</b>	<b>38</b>
<b>4.5 ÄNDERUNGEN VON KÖRPERZUSAMMENSETZUNG UND METABOLISCHEN PARAMETERN MIT GLP-1 AGONISTEN UND SGLT-2 INHIBITOREN</b>	<b>40</b>
<b>4.6 ASSOZIATIONEN ZWISCHEN VARIABLEN UND STEATOSE-REDUKTION</b>	<b>42</b>
<b>4.7 HEPATISCHES ANSPRECHEN AUF GLP – 1 AGONISTEN UND SGLT – 2 INHIBITOREN</b>	<b>43</b>
<b>5. DISKUSSION</b>	<b>45</b>
<b>5.1 STUDIENERGEBNISSE</b>	<b>45</b>
<b>5.2 VORARBEITEN ZU DEN EFFEKTEN VON GLP-1 AGONISTEN AUF DIE NAFLD</b>	<b>46</b>
<b>5.3 PATHOPHYSIOLOGISCHE MECHANISMEN, DIE DEN EINFLUSS DER GLP-AGONISTEN AUF DIE NAFLD ERKLÄREN</b>	<b>48</b>
<b>5.4 VORARBEITEN ZU DEN EFFEKTEN VON SGLT-2 INHIBITOREN AUF DIE NAFLD</b>	<b>49</b>
<b>5.5 PATHOPHYSIOLOGISCHE MECHANISMEN, DIE DEN EINFLUSS DER SGLT-2 INHIBITOREN AUF DIE NAFLD ERKLÄREN</b>	<b>51</b>
<b>5.6 VORTEILE DER STUDIE</b>	<b>52</b>
<b>5.7 LIMITATIONEN DER STUDIE</b>	<b>52</b>
<b>5.8 PERSPEKTIVEN</b>	<b>52</b>
<b>6. LITERATUR</b>	<b>54</b>
<b>7. VERÖFFENTLICHUNG</b>	<b>68</b>
<b>8. DANKSAGUNG</b>	<b>69</b>
<b>9. LEBENS LAUF</b>	<b>70</b>
<b>10. ANHÄNGE</b>	<b>73</b>
<b>10.1 DIABETES MELLITUS</b>	<b>73</b>
10.1.1 KLASSIFIKATION DES DIABETES MELLITUS	73
10.1.2 ALTERNATIV EMPFOHLENE KLASSIFIKATION DES DIABETES MELLITUS	74
<b>10.2 DIAGNOSEKRITERIEN DES DIABETES MELLITUS</b>	<b>74</b>
<b>10.3 NEUE ZUGELASSENE ANTIDIABETIKA</b>	<b>74</b>
10.3.1 GLP-1 AGONISTEN	74
10.3.2 SGLT-2 INHIBITOREN	75

# Abkürzungsverzeichnis

AASLD	American Association for the Study of Liver Disease
ALT	Alanin Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
APRI Score	Aspartate aminotransferase to Platelet Ratio Index Score
AST	Aspartat Aminotransferase
AUDIT	Alcohol Use Disorders Identification Test
BIA	Bioelectrical Impedance Analysis
BMI	Body Mass Index
CAP	Controlled Attenuation Parameter
CRP	C-reactive protein
DPP4	Dipeptidylpeptidase-4
EASL / ALEH	European Association for the Study of Liver / Asociacion Latinoamericana para el Estudio del Hgado
ELF Score	Enhanced Liver Fibrosis Score
ESPEN	European Society for clinical Nutrition and Metabolism
FDA	Food and Drug Administration
FIB-4 Index	Fibrosis-4 Index
GADA	Glutamat-Decarboxylase Antikörper
GIP	Gastric Inhibitory Polypeptide
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GLP-1	Glucagon-like Peptide-1
$\gamma$ -GT	$\gamma$ -Glutamyltranspherase
HbA <sub>1c</sub>	Hämoglobin A <sub>1c</sub>
HCC	Hepatocellular Carcinoma

HDL	High-Density-Lipoprotein
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment-estimated Insulin Resistance
H-MRS	H-Magnetresonanz-Spektroskopie
IDF	International Diabetes Federation
IL-6	Interleukin-6
IQR	Interquartile Range
LADA	Latent Autoimmune Diabetes in Adults
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LSM	Liver Stiffness Measurement
MARD	Mild Age-related Diabetes
MOD	Mild Obesity-related Diabetes
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
MRT	Magnetresonanztomographie
MRI-PDF	Magnetic Resonance Imaging-estimated Proton Density Fat Fraction
MRI-E	Magnetic Resonance Elastography
NAFIC Score	NASH Ferritin Insulin Collagen (Typ IV) Score
NAFL	Nonalcoholic Fatty Liver
NAFLD	Nonalcoholic Fatty Liver Disease
NASH	Nonalcoholic Steatohepatitis
NFS	NAFLD-Fibrosis Score
OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
PNPLA3	Patatin-Like-Phospholipase-Domain-Containing 3
SAID	Severe Autoimmune Diabetes
SIDD	Severe Insulin-deficient Diabetes
SGLT-2	Sodium-Glucose Cotransporter-2
SPSS	Statistical Package for the Social Sciencest

TE	Transient Elastography
TG	Triglyzeride
TNF-a	Tumornekrosefaktor-a
TU	Taillenumfang
VCTE	Vibration Controlled Transient Elastography
WHO	World Health Organisation

## **Abbildungsverzeichnis**

1. Zentrale Rolle der Insulinresistenz in der Pathogenese der NAFLD
2. LSM- und CAP-Messung (Fibroscan)
3. CAP-Änderungen in der gesamten Kohorte
4. CAP-Änderungen je nach Intervention (GLP-1 Agonisten oder SGLT-2 Inhibitoren)

## **Tabellenverzeichnis**

1. Studienablauf (Screening und Verlaufskontrollen)
2. Individuelle Patientencharakteristika (GLP-1 Agonisten Gruppe)
3. Individuelle Patientencharakteristika (SGLT-2 Inhibitoren Gruppe)
4. Baseline und Follow up-Daten der gesamten Kohorte
5. Ergebnisse für beide Interventionsarme (SGLT-2 Inhibitoren vs. GLP-1 Agonisten)
6. Uni- und multivariate Analyse: Determinanten der CAP-Änderungen
7. Hepatisches Ansprechen vs. Nicht-Ansprechen

# **1. Zusammenfassung**

## **1.1 Deutsche Zusammenfassung**

### **1.1.1 Einleitung**

Die nicht-alkoholische Fettlebererkrankung (NAFLD) ist eine häufig auftretende Erkrankung mit steigender Prävalenz (aktuell 25%). Neben Adipositas stellt der Diabetes mellitus Typ 2 einen wichtigen Risikofaktor dar. Auf der anderen Seite haben Patienten mit NAFLD ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2. Bisher existiert keine evidenzbasierte Pharmakotherapie, weswegen der Effekt verschiedener Antidiabetika auf die NAFLD durch multiple Studien überprüft wird. In dieser Studie wird untersucht, ob Natrium-Glucose Cotransporter-2 (SGLT-2) Inhibitoren oder Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) Agonisten eine Verbesserung der Steatose bei Patienten mit NAFLD und Diabetes mellitus Typ 2 bewirken.

### **1.1.2 Patienten und Methoden**

39 Patienten (49% Frauen, Alter  $57,7 \pm 10,9$  Jahre) mit Diabetes mellitus Typ 2 und NAFLD, die mittels controlled attenuation parameter (CAP)-Messung definiert werden konnte (CAP-Wert  $\geq 215$  dB/m), wurden rekrutiert. Es erfolgten eine Screening-Untersuchung und Kontrolluntersuchungen in einem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten in Bezug auf die Steatose, die Lebersteifigkeit (Vibration Controlled Transient Elastography) und die Körperzusammensetzung (Bioelectrical Impedance Analysis), ferner zur Leberfunktion sowie zum Glukose- und Lipidstoffwechsel.

### **1.1.3 Ergebnisse**

Es wurde eine signifikante ( $P = 0,026$ ) Reduktion der Steatosis hepatis in der gesamten Kohorte beobachtet. Diesbezüglich ergab sich eine absolute mediane Reduktion der CAP-Werte von  $-32$  dB/m ( $-58 - 32$  dB/m), die einer medianen relativen Reduktion von 9% entspricht. Ebenfalls wurden signifikante Verbesserungen der Leberenzyme (Alanin Aminotransferase,  $\gamma$ -Glutamyltransferase), des Körpergewichts und des Body Mass Index ( $-2,5 \pm 3,3$  kg und  $-0,9 \pm 1,2$  kg/m<sup>2</sup>) sowie der Parameter des Glukosestoffwechsels (Hämoglobin A<sub>1c</sub>, Nüchternglukose und Homeostatic Model Assessment-estimated Insulin Resistance) nachgewiesen. Die Subgruppenanalyse ergab eine signifikante ( $P = 0,014$ ) Reduktion der

Steatose ausschließlich in der Gruppe der Patienten, die mit SGLT-2 Inhibitoren behandelt wurden. Hier zeigte sich eine absolute mediane CAP-Reduktion von -38 dB/m (-58 – 9 dB/m).

#### **1.1.4 Schlussfolgerungen**

SGLT-2 Inhibitoren haben einen positiven Einfluss auf die Glukose-Homöostase, das Körpergewicht sowie die NAFLD. Daher könnten diese Medikamente bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und begleitender NAFLD bevorzugt verabreicht werden und sollten weiter untersucht werden.

## **1.2 Englische Zusammenfassung**

### **Treatment with Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) analogues and Sodium-Glucose Cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitors in patients with non-alcoholic liver disease and diabetes mellitus type 2**

#### **1.2.1 Introduction and aim**

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is believed to be the hepatic manifestation of metabolic syndrome and is currently the main cause of chronic liver disease in Western countries. NAFLD affects 80% of patients with type 2 diabetes, and plenty of studies report that insulin resistance is the primary determinant of its pathogenesis. Considering the lack of evidence-based pharmacotherapy for NAFLD, diabetes-related drugs are being tested. The aim of this study is to investigate whether SGLT-2 inhibitors or GLP-1 agonists improve hepatic fat accumulation in patients with type 2 diabetes.

#### **1.2.2 Patients and methods**

Overall, 39 patients (49% women, age  $57.7 \pm 10.9$  years) with type 2 diabetes and hepatic steatosis (defined by controlled attenuation parameter [CAP] values  $\geq 215$  dB/m) were prospectively recruited and observed during the initiation of clinical therapy with either SGLT-2 inhibitors or GLP-1 agonists. Patients were observed for 6 months and were assessed for the following: hepatic steatosis and liver stiffness (Vibration Controlled Transient Elastography); body composition (Bioelectrical Impedance Analysis); glucose and lipid-metabolism as well as surrogate markers of liver function.

#### **1.2.3 Results**

A significant reduction of median liver fat contents by 9% ( $P = 0.026$ ) was observed in the whole cohort after 6 months (absolute median CAP decrease  $-32$  dB/m,  $-58 - 32$  dB/m). This improvement was accompanied by significant reductions in liver function tests (reductions of alanine aminotransferase and  $\gamma$ -Glutamyltranspherase activities). Furthermore significant improvements in body weight, body mass index ( $-2.5 \pm 3.3$  kg and  $-0.9 \pm 1.2$  kg/m<sup>2</sup>, respectively) and glucose homeostasis (hemoglobin A<sub>1c</sub>, fasting plasma glucose and Homeostatic Model Assessment-estimated Insulin Resistance) were observed. Subgroup

analysis revealed significant ( $P = 0,014$ ) liver-related benefits to primarily occur in patients receiving SGLT-2 inhibitors (absolute median CAP decrease  $-38$  dB/m,  $-58 - 9$  dB/m).

#### **1.2.4 Conclusions**

SGLT-2 inhibitors improve hepatic steatosis parallel to glucose-homeostasis and body weight in patients with type 2 diabetes. Further studies should substantiate the positive effect of SGLT-2 inhibitors in larger groups of patients.

## 2. Einleitung

### 2.1 NAFLD: Definition, Prävalenz und Risikofaktoren

NAFLD ist die Fettakkumulation (Triglyzeride) in den Leberzellen, die identische klinische und histopathologische Merkmale wie die alkoholische Fettlebererkrankung besitzt. Die Diagnose wird bei fehlender Anamnese eines exzessiven Alkoholkonsums gestellt [52].

Die NAFLD ist die häufigste Ursache der chronischen Hepatopathie in westlichen Ländern [25] und betrifft etwa 25% der Gesamtbevölkerung [121]. Sie kann sich in verschiedenen Stadien äußern, wie zum Beispiel der nicht alkoholischen Fettleber (NAFL) und der nicht alkoholischen Steatohepatitis (NASH), die mit entzündlichen Prozessen einhergeht und im Verlauf zur Fibrose und Zirrhose fortschreiten kann [25]. Ein erhöhtes Risiko zum HCC (hepatozelluläres Karzinom) in nicht zirrhotischer Leber ist bei der NAFLD ebenfalls beschrieben [70]. Nach Schätzungen wird die NASH im Jahr 2020 die Hauptindikation zur Lebertransplantation darstellen [17].

Es gibt zunehmende Evidenz, dass Diabetiker eine höhere Tendenz zur Entwicklung der prognostisch ungünstigeren NAFLD-Stadien (NASH, Fibrose, Zirrhose) haben [63, 87]. Es wird ferner vermutet, dass die Präexistenz des Diabetes mellitus Typ 2 bei Patienten mit NAFLD selbst einen unabhängigen Risikofaktor für die leberassoziierte Mortalität und HCC-Entwicklung darstellt [85]. Die NAFLD hat eine hohe Prävalenz von 80% bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 [109]. Diese scheint bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und Adipositas noch höher zu sein [86]. Park et al. [82] berichten in einer prospektiven Kohortenstudie über ein höheres Risiko zur Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 bei Patienten mit bereits vorhandener NAFLD im fortgeschrittenen Stadium. In der Studie von Masarone et al. wurde die Prävalenz der histologisch gesicherten NAFLD, NASH und Zirrhose bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 (136 Probanden) und metabolischem Syndrom (215 Probanden) verglichen. Die Prävalenz der NAFLD bei Diabetikern betrug 100%. Die Prävalenz der NASH und Zirrhose war höher bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 als bei Patienten mit metabolischem Syndrom [73]. Nach diesen Ergebnissen wird angenommen, dass die reale Prävalenz der NAFLD bei Diabetikern höher liegt als bisher vermutet (70-80%), da meistens indirekte diagnostische Maßnahmen (wie z.B. biochemische Parameter, Scores, Ultraschalluntersuchung), die eine beginnende NAFLD nicht immer erfassen können, angewendet wurden. Die NAFLD ist außerdem mit einem erhöhten Risiko zur Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen assoziiert, bedingt durch die Sekretion verschiedener

proinflammatorischer, proatherogener und diabetogener Mediatoren, wie C-reaktives Protein (CRP), Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Fibrinogen, Fetuin-A und fibroblast growth factor-21. Sie gilt somit als Frühindikator für kardiovaskuläre Komplikationen des metabolischen Syndroms [108, 120].

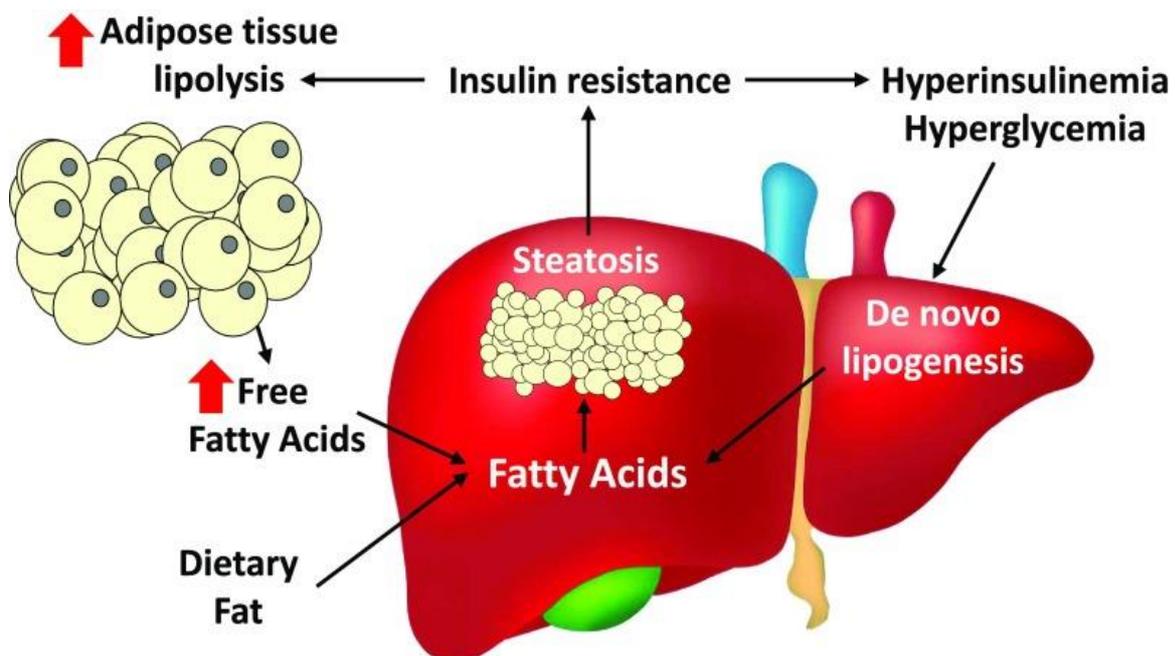
### **2.1.1 Diabetes mellitus Typ 2 (Prävalenz und Klassifikation)**

Diabetes mellitus Typ 2 ist eine der häufigsten chronischen Krankheiten und ein zunehmendes Gesundheitsproblem weltweit. Für 2017 wurden laut der internationalen Diabetes Föderation (IDF) 451 Mio. Diabetiker weltweit behandelt, entsprechend 8,9% der männlichen und 8,4% der weiblichen erwachsenen Bevölkerung. Für 2045 werden 693 Mio. Diabetiker geschätzt, beziehungsweise 9,9% der Bevölkerung [49]. Die bundesweite Studie des Robert Koch-Instituts zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1) im Jahr 2012 zeigte eine Gesamtprävalenz des Diabetes mellitus Typ 2 von 7,0% bei Männern und 7,4% bei Frauen zwischen 18 und 79 Jahren, somit etwa 4,6 Mio. Betroffene [41]. Eine steigende Prävalenz des Diabetes mellitus Typ 2 in Deutschland von 8,5% in 2009 auf 9,5% in 2015 konnte ebenfalls nachgewiesen werden [37]. Der Diabetes mellitus Typ 2 betrifft 90-95% aller Diabetes-Fälle [3] und ist eine multifaktorielle Erkrankung, die durch genetische Veranlagungen und vielfältige Umweltfaktoren, wie Überernährung und mangelnde Bewegung, auftreten kann. Die Pathogenese steht in Zusammenhang mit der Entwicklung einer Insulinresistenz; dabei handelt es sich um eine initial gestörte Insulinwirkung, die konsekutiv zu einer mangelnden Insulinproduktion führt.

Am 01. März 2018 wurde eine neue Diabetes-Klassifikation nach Untersuchung von 15.000 neu diagnostizierten Diabetikern in fünf verschiedenen Kohorten in Finnland und Schweden publiziert [2] (S. Anhang 10.1.1). Folgende Faktoren und biochemische Parameter wurden für die neue Diabetes-Einteilung berücksichtigt: Alter bei Erstdiagnose, Body Mass Index (BMI), Hämoglobin A1c (HbA1c), Antikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GADA), Homeostatic Model Assessment -estimated Insulin Resistance (HOMA-IR) und C-Peptid. Ziele der neuen Klassifikation sind die rechtzeitige Erkennung der Patientengruppen mit dem höchsten Risiko zur Entwicklung von Folgeerkrankungen und der rechtzeitige Beginn einer sinnvollen antidiabetischen Therapie.

## 2.2 NAFLD: Pathogenese

Die Pathogenese der NAFLD ist nicht völlig geklärt. Es handelt sich um ein Ungleichgewicht zwischen Fettsäure-Anreicherung und Fettsäure-Oxidation mit konsekutiver positiver Fettsäure-Balance in der Leber. Die NAFLD kann sowohl die Ursache als auch die Folge der Insulinresistenz und des Diabetes mellitus Typ 2 sein [82, 106]. Der Pathomechanismus, der zur NAFLD auf dem Boden einer Insulinresistenz führt, kann wie folgt erläutert werden: Bei vorliegender Insulinresistenz oder bei Insulinmangel, im Rahmen eines präexistenten Diabetes mellitus Typ 2, bleibt die insulinvermittelte Lipase-Suppression aus und es kommt zu einer zunehmenden Lipolyse im Fettgewebe und damit zu einer gesteigerten Freisetzung von freien Fettsäuren und einem vermehrten Fettsäuretransport in die Leber. Auf der anderen Seite führt die Hyperglykämie, die sowohl bei Insulinresistenz als auch bei Diabetes mellitus Typ 2 vorliegt, zur Überladung der Leber mit Glukose und konsekutiv zur Steigerung der „de novo Lipogenese“ und zur Inhibition der Fettsäure-Oxidation [62], (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Reprinted with permission from Brian N. Finck: Targeting Metabolism, Insulin Resistance, and Diabetes to Treat Nonalcoholic Steatohepatitis; Diabetes 2018 Dec; 67(12): 2485- 2493.<https://doi.org/10.2337/dbi18-0024>. Copyright 2018 by the American Diabetes Association [30]

Es ist außerdem bewiesen, dass Inflammation eine wichtige Rolle im Pathomechanismus der NAFLD und des Diabetes mellitus Typ 2 spielt. Diese kann die Folge einer Überforderung des Immunsystems durch chronischen metabolischen Stress, z.B. bei Überernährung und Adipositas, sein [24, 32]. Antiinflammatorische Medikamente, die bereits für die Behandlung systemischer Erkrankungen wie die rheumatoide Arthritis angewendet werden, zeigen einen positiven Einfluss auf die Blutzuckerwerte, sodass eine zukünftige antiinflammatorische Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 möglich erscheint [24].

In der Two hit-Hypothese führt eine exzessive Adipositas zu inflammatorischen Prozessen im Fettgewebe mit konsekutiver Sekretion von Adipozytokinen, z.B. TNF $\alpha$ , IL-6, Leptin, Resistin, vor allem aus dem viszeralen Fettgewebe, die einen proinflammatorischen Einfluss auf die Leber ausüben. Dadurch werden der endoplasmatische Stress, die mitochondriale Dysfunktion und die Apoptose von Leberzellen induziert - Prozesse, die zur Entwicklung einer NASH führen („2nd Hit“). Die Insulinresistenz stellt den „1st Hit“ dar, der zur hepatischen Fettakkumulation und Steatose führt und die Leber vulnerabler macht. Der vorhandene oxidative Stress bei NAFLD kann konsekutiv zur Fibrose (Leberverschlebung), Zirrhose und möglicherweise zum Leberzellkarzinom führen [29]. Durch die Sekretion und die Dysbalance der proinflammatorischen Zytokine nimmt die Insulinresistenz weiter zu [88].

Adiponectin gehört zu den Adipozytokinen, die aus dem Fettgewebe sezerniert werden. Im Gegensatz zu den meisten Adipozytokinen wirkt Adiponectin protektiv gegen Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2, indem es die Insulinsensitivität steigert und vor der Inflammation des Fettgewebes schützt [35]. Li et al. [64] konnten eine negative Korrelation zwischen Adiponectin und dem HbA1c-Wert nach Initiierung einer Glimperid-Therapie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 nachweisen. In einer Metaanalyse zeigte sich eine signifikante Erhöhung des NAFLD-Risikos bei einem bestimmten Adiponectin-Polymorphismus (rs1501299), der mit erniedrigten Adiponectin-Werten korreliert ist [67].

Breite Akzeptanz gewinnt heutzutage, aufgrund der Komplexität und multifaktoriellen Pathogenese der NAFLD, die Theorie der „multiple hits“. In dieser spielen auch genetische und exogene Faktoren sowie Interaktionen zwischen Organen (z.B. Fettgewebe-Leber, Darm-Leber, Pankreas-Leber) eine wichtige Rolle [29].

Ein weiterer Baustein, der bei der NAFLD-Pathogenese eine wichtige Rolle spielt, ist das intestinale Mikrobiom [113, 115]. Ein kausaler Zusammenhang zwischen intestinaler Mikrobiota und der Pathogenese der NAFLD ist wissenschaftlich belegt [93, 124]. Da Silva et al. [99] konnten nachweisen, dass die NAFLD mit einer reduzierten intestinalen Besiedlung mit

bestimmten Bakterienspezies (*Ruminococcus*, *F. prausnitzii*, *Coprococcus*), unabhängig von BMI und Insulinresistenz, assoziiert ist.

DPP4 (Dipeptidylpeptidase-4) ist ein Enzym, das die Spaltung und somit die Deaktivierung der Inkretine [GLP-1 (Glucagon-like Peptide-1) und GIP (Gastric Inhibitory Polypeptide)] katalysiert. Es wurde bereits eine Assoziation zwischen einem Anstieg von sDPP4 (soluble DPP4) im Serum und NAFLD / NASH postuliert. Aso et al. [9] konnten Verbesserungen der Leberfunktion bei Patienten mit NAFLD und Diabetes mellitus Typ 2 nach einer 6-monatigen Dapagliflozin-Therapie nachweisen. Die Reduktion der Leberfunktionsparameter zeigte eine Korrelation mit dem Abfall der sDPP4 im Serum. Eine Studie mit Mäusen zeigte, dass Adipositas die DPP4-Sekretion aus den Leberzellen fördert, die wiederum zur Inflammation des Fettgewebes und zur Insulinresistenz der Leber beiträgt [34].

### 2.2.1 NAFLD und Genetik

2008 gelang zum ersten Mal der Nachweis, dass ein Einzelnukleotid-Polymorphismus im „Patatin-like-phospholipase domain-containing 3“ (*PNPLA3*)-Gen, das das Enzym Adiponutrin kodiert, mit dem intrahepatischen Fettgehalt signifikant assoziiert ist [91]. Es handelt sich um eine Substitution von Cytosin auf Guanin mit der Folge eines Austauschs von Isoleucin zu Methionin an der Aminosäureposition 148 (p. I148M).

Adiponutrin besitzt Triglyzerid-Hydroxylase-Aktivität. Untersuchungen weisen erhöhte intrahepatische Triglyzeride nach, die mit der Variante p.I148M assoziiert sind und durch multiple Änderungen des Triglyzerid-Metabolismus induziert werden [57, 65, 68].

Mehrere Studien haben seitdem die starke Assoziation der *PNPLA3*-Variante mit der Entwicklung und der Progression der NAFLD, inklusive der nicht alkoholischen Fettleber-Fibrose, belegt. Krawczyk et al. [55] demonstrierten mittels nicht invasiver Messungen (transiente Elastographie, Fibroscan) eine enge Korrelation der Adiponutrin-Variante mit einem erhöhten Fibrose-Risiko, unabhängig von der Ursache der chronischen Lebererkrankungen. Eine Metaanalyse bewies ebenfalls die Assoziation der *PNPLA3*-Variante mit dem Fibrose-Risiko bei NAFLD [100]. Der Einfluss dieser Genvariante auf die Leberentzündung und Progression hin zu prognostisch ungünstigen Krankheitsstadien (inklusive Leberzirrhose und Karzinom) scheint bei NAFLD und alkoholischer Fettlebererkrankung (ALD) im Vergleich zu Virushepatitiden ausgeprägter zu sein [114]. Die *PNPLA3*-Variante ist damit ein unabhängiger Risikofaktor, der möglicherweise bei allen

möglichen Ursachen einer Steatosis hepatis deletär wirkt (alkoholische Fettleber, chronische Virushepatitis, nicht-alkoholische Fettleber) [12].

## **2.3 NAFLD: Screening & Diagnostik**

Die aktuellen Leitlinien der AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) und der EASL (European Association for the Study of the Liver) [16, 69] empfehlen kein Routine-Screening zur Detektion einer NAFLD. Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 sollten mittels biochemischer Scores [z.B. NAFLD Fibrosis Score (NFS), Fibrosis-4 (FIB-4) Index] oder Vibration Controlled Transient Elastography (VCTE) untersucht werden, damit diese mit fortgeschrittenen Stadien der NAFLD (NASH/Fibrose/Zirrhose) rechtzeitig identifiziert werden [16].

### **2.3.1 Leberbiopsie**

Die Leberbiopsie ist immer noch der „Gold-Standard“ zur Diagnose der Steatosis hepatis und die Methode zur Differentialdiagnose zwischen verschiedenen Stadien einer chronischen Lebererkrankung, wenn die zur Verfügung stehenden nicht-invasiven Untersuchungen kein aussagekräftiges Ergebnis ergeben. Jedoch ist die Leberbiopsie invasiv und gewissen Limitationen unterworfen [26]. 2005 entwickelten Kleiner et al. (Pathology Committee of NASH Clinical Research Network) ein histologisches Scoring-System für die NAFLD [52]. Die histologische Diagnose einer NAFLD verlangt eine Fettakkumulation in mindestens 5% der Leberzellen. Das fortgeschrittene Stadium der NASH beinhaltet außer einer Steatose auch nekroinflammatorische Läsionen wie „Ballooning“ mit oder ohne fibrotische Veränderungen. Aufgrund verschiedener Limitationen und möglicher Komplikationen ist die Leberbiopsie jedoch nicht die geeignete diagnostische Methode zur Durchführung eines „Screenings“ oder eines „Follow up“ bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen, z.B. NAFLD.

### **2.3.2 Biochemische Untersuchungen und Serum Biomarker**

Erhöhte Transaminasen sind nicht spezifisch für eine NAFLD. Wie bereits Portillo Sanchez et al. [86] zeigten, betrug die Prävalenz von NAFLD und NASH bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und normwertigen Transaminasen jeweils 76% und 56%. Es wurden multiple serologische Methoden zur Diagnose der NAFLD und Detektion der fortgeschrittenen Stadien der Leberfibrose entwickelt, wie zum Beispiel der APRI (Aspartate aminotransferase to Platelet

Ratio Index) Score [122] sowie der FIB-4 Index, der NFS und der Enhanced Liver Fibrosis (ELF) Score (zitiert nach Leite et al. 2014). Außerdem wurden mehrere Serum-Biomarker (z.B. Adiponectin oder Cytokeratin-18) als mögliche diagnostische Parameter identifiziert [78].

### **2.3.3 Bildgebende Diagnostik**

In den letzten Jahren wurden ebenfalls neue nicht-invasive bildgebende Methoden zur Diagnose der NAFLD und Detektion der Patienten mit fortgeschrittenen NAFLD-Stadien (NASH, Fibrose, Zirrhose) entwickelt. Diese nicht-invasiven Techniken erlauben uns, die Anzahl der bioptischen Untersuchungen zu minimieren und diese nur dann durchzuführen, wenn eine genaue Identifizierung fortgeschrittener NAFLD-Stadien prognostisch relevant ist. Die Leber-Sonographie ist kostengünstig und kann komplikationslos durchgeführt werden. Die Sensitivität und Spezifität zur Diagnose einer NAFLD mittels Sonographie betragen jeweils 60-94% und 66-95%; allerdings kann der Ultraschall eine milde Steatose (5-30%) nicht erkennen und zwischen Steatose und beginnender Fibrose nicht sicher unterscheiden [31]. Die Computertomographie ist eine zuverlässige Diagnostik zur Evaluierung einer milden Steatose, jedoch kann diese im Rahmen eines Screenings, aufgrund der hohen Strahlenbelastung, nicht eingesetzt werden [66]. Die MRS (Magnetresonanz-Spektroskopie) zeigt eine hohe Sensitivität und Spezifität zur Identifizierung der NAFLD und korreliert sehr akkurat mit histologischen Befunden [102]. Die MR-Elastographie hat einen hohen negativen Vorhersagewert, womit eine fortgeschrittene Leberfibrose ausgeschlossen werden kann. Zudem kann sehr genau zwischen der beginnenden NAFLD und den fortgeschrittenen Stadien der NASH und Fibrose unterschieden werden [18]. MRI-PDFF (Magnetic Resonance Imaging-estimated Proton Density Fat Fraction) und MRI-E (Magnetic Resonance Elastography) wurden in einer prospektiven Studie als Methoden zur Diagnose einer NAFLD oder Leberfibrose bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 positiv validiert [26]. Allerdings stellen die hohen Kosten der kernspintomographischen Untersuchungen eine wichtige Limitation für die Anwendung im Rahmen eines NAFLD-Screenings oder zum Follow up dar.

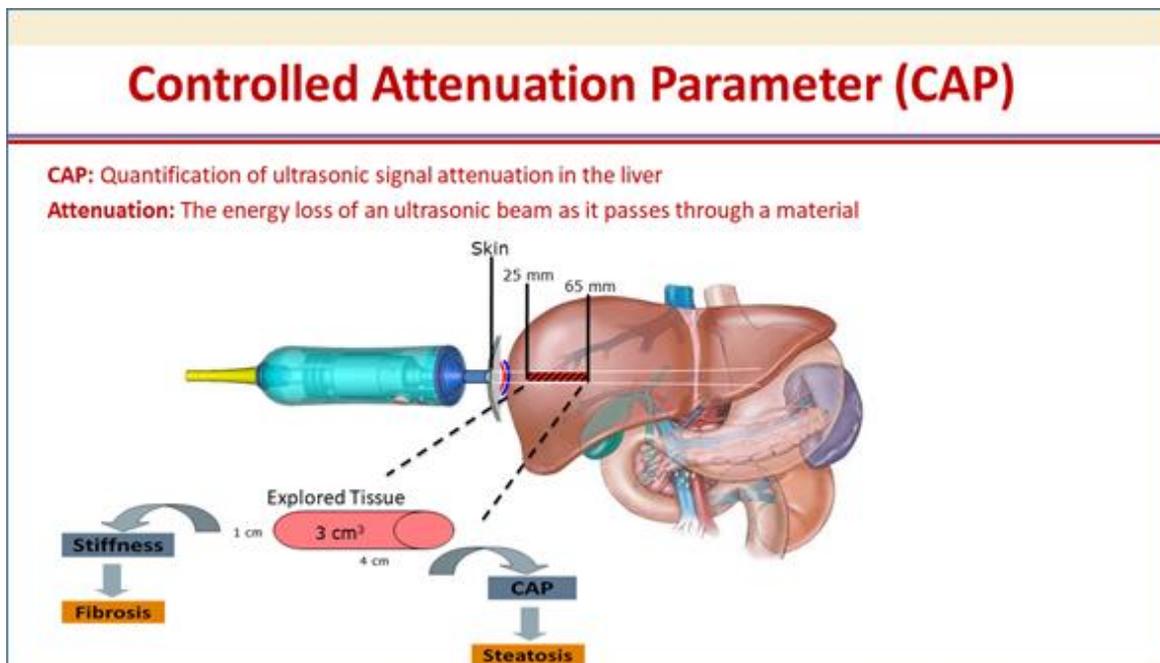
### 2.3.4 Fibroscan (transiente Elastographie, CAP-Messung)

Eine neue nicht-invasive Methode zur Detektion und Quantifizierung der NAFLD ist die CAP (Controlled Attenuation Parameter)-Messung, die mithilfe des Fibroscan-Geräts durchgeführt wird. Fibroscan ist eine vibrationskontrollierte transiente Elastographie (VCTE), die zur Beurteilung der Lebersteifigkeit angewendet wird. Die Messsonde des Fibroscan-Geräts besteht aus einem Vibrationssender und einer Ultraschallsonde. Durch den Vibrationssender wird eine Impulswelle induziert, die sich im Lebergewebe ausbreitet. Je härter bzw. fibrotischer das Leberparenchym ist, desto schneller propagiert die Impulswelle. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit wird mithilfe der Ultraschallsonde in kPa errechnet, und es können Werte von 1,5 bis 75 kPa erfasst werden. Es wurde bereits eine signifikante Assoziation der transienten Elastographie mit den histologischen Stadien der Leberfibrose nachgewiesen. Nach Wong et al. [117] wurde die transiente Elastographie (TE) als eine diagnostische Methode mit hohem negativen prädiktiven Wert und moderatem positiven prädiktiven Wert, geeignet zum Ausschluss einer fortgeschrittenen Leberfibrose, validiert; eine weitere Evaluation mittels Leberbiopsie wurde bei Werten  $> 7,9$  kPa empfohlen. In der Biopsie-kontrollierten Studie von Roulot et al. [92] wurde der Einsatz der TE als Screening-Methode zur Detektion der Leberfibrose und Zirrhose in der Gesamtpopulation evaluiert. Die Cut-offs, die für die Diagnose einer Leberfibrose und Zirrhose angewendet wurden, waren 8 bzw. 13 kPa. Dieselben Grenzwerte wurden in der „Rotterdam-Studie“ ausgewählt, da diese mit einem hohen positiven prädiktiven Wert zur Diagnose von Leberfibrose und Zirrhose einhergingen [53]. Die Leitlinien der European Association for the Study of Liver (EASL) empfehlen folgende Grenzwerte zur Diagnose der entsprechenden Fibrose-Stadien:  $< 6$  kPa = keine oder minimale Leberfibrose,  $6 - 12$  kPa = manifeste Leberfibrose,  $> 12$  kPa = Leberzirrhose [14]. Kamarajah et al. [46] konnten NAFLD-Patienten mit erhöhtem Risiko zur Entwicklung leberassoziierter und kardiovaskulärer Komplikationen durch TE-Messungen ähnlich gut wie mit Leberbiopsien identifizieren.

Die CAP-Messung basiert auf den physikalischen Eigenschaften der Ultraschallsignale, die mit dem Fibroscan gesendet und empfangen werden können. Sie errechnet die Ultraschalldämpfung („go-and-return-path“), die das Fett verursacht. Diese wird in dB/m angegeben, und die Spannweite der Werte reicht von 100-400 dB/m. Es wurde gezeigt, dass eine Leberverfettung  $> 10\%$  erfasst werden kann [94]. Außerdem ist diese Untersuchung nicht-invasiv und kostengünstig. Mehrere Studien wurden bereits über die CAP-Messung publiziert [19, 61, 94, 95, 118]. De Ledingen et al. [61] zeigten eine signifikante Korrelation der CAP-Werte mit den histologischen Befunden der Leberbiopsie bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen und empfahlen folgende Grenzwerte für die Bestimmung des

entsprechenden Steatosegrades: 215 dB/m für  $S \geq 1$ , 252 dB/m für  $S \geq 2$ , und 296 dB/m für  $S \geq 3$ . Eine neuere Studie von Karlas et al. bewies eine starke Korrelation der CAP-Werte mit histologisch diagnostizierten NAFLD-Phänotypen und empfahl folgende Grenzen für die entsprechenden Steatosestadien: 248 dB/m für  $> S0$ , 268 dB/m für  $> S1$  und 280 dB/m für  $> S2$  [47].

Eine weitere Studie von De Ledinghen et al. [60] zeigte eine signifikante Assoziation der CAP-Werte mit allen Komponenten des metabolischen Syndroms. Karlas et al. [48] berichteten, dass die CAP-Messung mit der MR-Spektroskopie hinsichtlich der Quantifizierung der NAFLD vergleichbar ist. In einer Biopsie-kontrollierten Studie wurde die CAP-Messung als eine sehr akkurate diagnostische Methode zur Steatose-Detektion mit einem hohen negativen prädiktiven Wert validiert [6]. Es ergab sich eine signifikante Korrelation der CAP-Messungen mit verschiedenen Faktoren des metabolischen Syndroms wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus Typ 2, Dyslipidämie und BMI. BMI und Cholesterinwerte waren unabhängig mit erhöhten CAP-Werten assoziiert.



**Abbildung 2:** Presentation of Dr. Naga P. Chalassani: "Initial Work-up and Evaluation of a Patient With NAFLD" in ACG 2018 Annual Scientific Meeting

## 2.4 NAFLD-Therapie

Die Tatsache, dass die NAFLD heutzutage eine der wichtigsten Ursachen für Leberzirrhose und HCC repräsentiert und somit letztlich auch zur Lebertransplantation führen kann, macht die Notwendigkeit zur Entwicklung evidenzbasierter Therapien immer dringlicher. Zurzeit gibt es keine zugelassenen medikamentösen Therapien für die Behandlung der NAFLD/NASH. „Lifestyle“-Modifikationen im Sinne von Gewichtsabnahme durch diätetische Maßnahmen und sportliche Aktivität bleiben der Grundstein der Therapie [16]. Eine Gewichtsabnahme von 3-5% kann eine Reduktion der Steatosis hepatis bewirken, wobei eine stärkere Gewichtsabnahme von mindestens 7-8% zur Verbesserung oder Abheilung der Steatohepatitis erforderlich ist. Stokes et al. [103] präsentieren Beispiele kurzfristiger diätetischer Interventionen, die grundsätzlich auf Makronährstoffe fokussiert sind. Ob allerdings solche Interventionen von den Patienten längerfristig toleriert werden können, ist umstritten. Eine mediterrane Diät scheint einen positiven Einfluss auf die NAFLD zu haben, auch ohne begleitende Gewichtsreduktion [123]. Die kalorische Restriktion spielt die entscheidende Rolle bei der Behandlung der Fettleber [36, 38]. Vermehrte körperliche Aktivität wird zusammen mit Änderungen der Ernährungsgewohnheiten im Rahmen der „First line“-Therapie für NAFLD empfohlen. In einer Studie wurde gezeigt, dass die Reduktion der Fettleber durch Sport ohne parallele signifikante Gewichtsreduktion möglich ist; dies weist darauf hin, dass sportliche Betätigung einen unabhängigen hepatoprotektiven Faktor darstellt [39].

Die Steatosis hepatis repräsentiert die hepatische Komponente des metabolischen Syndroms und wird als solche positiv von der Behandlung koexistierender metabolischer Risikofaktoren und Komorbiditäten beeinflusst, wie der Therapie der arteriellen Hypertonie, des Diabetes mellitus Typ 2 oder der Hyperlipoproteinämie.

Die AASLD- und EASL-Leitlinien empfehlen eine medikamentöse Therapie nur bei histologisch gesicherter NASH [16, 69]. Pioglitazon (Insulin-Sensitizer) und Vitamin E (Antioxidans) wurden bereits getestet und führen histologisch zu einer Verbesserung der NASH. Es wird daher die Einleitung einer Pioglitazon-Therapie bei Patienten mit oder ohne Diabetes mellitus Typ 2 empfohlen. Unter einer Therapie mit dem GLP-1 Agonisten Liraglutide fanden sich im Rahmen einer Phase II Studie in 39% der Verum-Gruppe histologisch keine NASH-typischen Veränderungen mehr, jedoch wird noch nicht empfohlen, GLP-1 Agonisten als spezifische Therapie der NAFLD/NASH einzusetzen [7].

## 2.5 GLP-1 Agonisten & SGLT-2 Inhibitoren

Wie bereits erwähnt, es gibt eine enge Assoziation zwischen NAFLD und Diabetes mellitus Typ 2 (s. Kapitel 2.1 und 2.2). Die Insulinresistenz spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese beider Entitäten [53] und eignet sich aus diesem Grund möglicherweise als Ansatzpunkt für künftige medikamentöse Therapien beider Erkrankungen.

Neuere zugelassene Antidiabetika, deren positive Einflüsse auf eine begleitende NAFLD in Studien überprüft werden, sind die GLP-1 Agonisten und die SGLT-2 Inhibitoren. Beide Medikamente beeinflussen positiv die Glukose-Stoffwechsellage, am ehesten durch Reduktion der Insulinresistenz, ferner scheinen sie aufgrund unterschiedlicher Wirkungsmechanismen eine Körpergewichtsabnahme zu bewirken (S. Anhang 10.2). Diese Effekte implizieren eine positive Wirkung auf eine möglicherweise begleitende NAFLD. Mehrere Studien berichteten über die positiven Wirkungen der SGLT-2 Inhibitoren auf den Glukosestoffwechsel, die Körperzusammensetzung, die biochemischen Leberfunktionsparameter und die hepatische Fettakkumulation [4, 44, 54, 79, 97, 112]. Auch die GLP-1 Agonisten wurden sowohl im Tiermodell als auch am Menschen untersucht. Leberassoziierte Änderungen (Leber-Histologie und -Funktionsparameter) zeigten sich in mehreren Studien bei Mäusen. Neben Verbesserungen des Glukosestoffwechsels und des Körpergewichts wurde eine Reduktion des hepatischen Fettgehalts auch bei Menschen in manchen [7, 84], allerdings nicht in allen Studien [101, 107], beobachtet.

Die neuesten amerikanischen Leitlinien zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 empfehlen eine differenziertere, individuelle Therapie, abhängig von der aktuellen Glukose-Homöostase und den Komorbiditäten [90]. Dies kann Vorteile bei bestimmten Patientengruppen haben, zum Beispiel bei Patienten mit Insulinresistenz, begleitender Herzerkrankung, oder chronischer Nephropathie, da Medikamente, wie die von uns getesteten GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren, früher eingesetzt werden dürfen als bisher. Vermutlich werden Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und begleitender NAFLD (80% der Diabetiker Typ 2) von diesem neuen Konzept profitieren, da eine zielgerichtete Therapie, wie zum Beispiel mit SGLT-2 Inhibitoren, zügig umgesetzt werden kann.

## 2.6 Ziele und Hypothesen

Das primäre Ziel der Studie ist, bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und NAFLD zu überprüfen, ob eine sechsmonatige Therapie mit GLP-1 Agonisten oder SGLT-2 Inhibitoren zur Reduktion der Steatose, nicht-invasiv quantifiziert mittels CAP-Messung, führt. Sekundär werden der Einfluss der GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren auf die Glukose-Homöostase (HbA1c, Nüchtern-Glukose, HOMA-IR), die Lipid-Homöostase [Gesamt-, LDL (low-density lipoprotein)-, HDL (high-density lipoprotein)-Cholesterin, Triglyzeride], das Gewicht und die Körperzusammensetzung sowie die Leberfunktionsparameter [AST (Aspartat Aminotransferase), ALT (Alanin Aminotransferase),  $\gamma$ -GT ( $\gamma$ -Glutamyltranspherase), AP (alkalische Phosphatase), Bilirubin] untersucht.

Diese ist die erste Studie in Deutschland und Europa, die die Effekte der GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren auf die Steatosis hepatis mittels CAP systematisch überprüft.

Folgende Hypothesen werden anhang der Studienergebnisse überprüft:

1. GLP-1 Agonistentherapie und SGLT-2 Inhibitorentherapie verbessern bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und NAFLD die Glukose-Stoffwechsellage und reduzieren parallel die Steatosis hepatis.
2. GLP-1 Agonistentherapie und SGLT-2 Inhibitorentherapie reduzieren das Körpergewicht und verbessern die Körperzusammensetzung.
3. Es gibt eine Assoziation zwischen der Steatose- und der Gewichtsreduktion sowie der Steatose und den Änderungen der Körperzusammensetzung.
4. Definierte Baseline-Charakteristika sind mit einer signifikanten Steatose-Reduktion assoziiert.

## 3. Patienten und Methoden

### 3.1 Studiendesign

Es handelt sich um eine prospektive open-label Studie.

### 3.2 Studienteilnehmer

39 Frauen und Männer (Alter  $\geq$  18 Jahre), mit bereits diagnostiziertem Diabetes mellitus Typ 2 und mittels CAP-Messung diagnostizierter NAFLD wurden eingeschlossen. Diese hatten sich nach der Routine-Untersuchung in der Ambulanz der Klinik der Innere Medizin II des Universitätsklinikums des Saarlandes für eine Optimierung der antidiabetischen Therapie mit GLP-1 Agonisten oder SGLT-2 Inhibitoren qualifiziert.

Folgende Medikamente wurden Anhand der klinischen und laborchemischen Ergebnisse sowie der Voranamnese und Risikoprofil der Patienten von den behandelnden Ärzten in unserer Abteilung eingesetzt:

#### 1. GLP-1 Agonisten:

- Gabe von Exenatid (Handelsname Byetta®) zweimal täglich 5  $\mu$ g s.c. für einen Monat, dann ggf. zweimal täglich 10  $\mu$ g s.c., jeweils 1 h vor Mahlzeit, oder
- Gabe von Liraglutid (Handelsname Victoza®) einmal täglich 0,6 mg s.c. für eine Woche, dann Steigerung auf 1,2 mg und ggf. nach 1 Woche auf 1,8 mg, oder
- Gabe von Dulaglutid (Handelsname Trulicity®) einmal wöchentlich 0,75-1,5 mg s.c.

**oder**

#### 2. SGLT-2 Inhibitoren:

- Gabe von Dapagliflozin (Handelsname Forxiga®) einmal täglich 5 mg p.o. für eine Woche, dann Steigerung auf 10 mg, oder
- Gabe von Empagliflozin (Handelsname Jardiance®) einmal täglich, 10 mg p.o. initial; bei guter Verträglichkeit Steigerung der Dosierung auf 25 mg p.o.

Insgesamt erhielten 17 Patienten einen GLP-1 Rezeptoragonist und 22 Patienten einen SGLT-2 Inhibitor.

Die Studie wurde nach den Leitlinien, wie diese in der „Declaration of Helsinki“ beschrieben wurden, durchgeführt. Eine Patienteninformation über die Studie wurde ausgehändigt und mit den Studienpatienten besprochen. Die Patienten haben eine Einverständniserklärung, wie von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes anerkannt ist, unterschrieben.

### **3.3 Einschlusskriterien**

- Alter  $\geq$  18 Jahre
- Fähigkeit, eine schriftliche Einverständniserklärung zu verstehen und zu unterschreiben
- Diagnostizierter Diabetes mellitus Typ 2 unter antidiabetischer Therapie
- Keine adäquate Kontrolle der Glukose-Stoffwechsellage ( $\text{HbA1c} \geq 6,5\%$ )
- Keine Änderung der antidiabetischen Therapie in den letzten 3 Monaten
- Steatosis hepatis (CAP-Messung  $\geq 215$  dB/m)

### **3.4 Ausschlusskriterien**

- Fehlende Einwilligung zur Studie
- Leberzirrhose (Lebersteifigkeit  $\geq 13$  kPa)
- Alkoholkonsum ( $\geq 21$  Getränke/Woche, ca. 30 g Alkohol täglich bei Männern bzw.  $\geq 14$  Getränke/Woche, ca. 20 g Alkohol täglich bei Frauen), beurteilt mittels AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test)-Fragebogen
- Virushepatitis
- Medikamentös-toxische Hepatopathie
- Positive Anamnese für andere Lebererkrankungen (Autoimmunhepatitis, Hämochromatose, Morbus Wilson)
- Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)  $< 30$  ml/min bei GLP-1 Agonisten, GFR  $< 60$  ml/min bei SGLT-2 Inhibitoren
- Schwangerschaft

## 3.5 Studienablauf und Zeitplanung

### 3.5.1 Screening (Baseline)

Vor der klinischen Einleitung der Therapie mit GLP-1 Analoga oder SGLT-2 Inhibitoren wurde bei allen ausgewählten Patienten ein Screening durchgeführt. Dieses beinhaltete die Überprüfung der Baseline-Charakteristika (aktueller Gesundheitsstatus, Anamnese, Medikamentenanamnese) sowie das Ausfüllen des AUDIT-Fragebogens zum Ausschluss eines exzessiven Alkoholkonsums. Die Quantifizierung der Steatose erfolgte mithilfe der CAP-Messung und die Beurteilung der Lebersteifigkeit mithilfe der vibrationskontrollierten transienten Elastographie (VCTE). Außerdem wurden Messungen des Taillenumfangs sowie des Körpergewichts und der Größe zur Bestimmung des BMI durchgeführt. Mittels BIA (Bioelektrische Impedanzanalyse) konnte die Körperzusammensetzung beurteilt werden. Eine biochemische Analyse zur Bestimmung der Leberfunktions- und Lebersyntheseparameter sowie der Parameter des Glukose- und des Lipidstoffwechsels wurde ebenfalls durchgeführt. Hepatitis A, B, C und D wurden mithilfe der Hepatitis-Serologie ausgeschlossen.

### 3.5.2 Verlaufskontrollen

Nach der Initiierung der oben genannten medikamentösen Therapien, wie diese von den behandelnden Ärzten verordnet wurden, erfolgen drei Verlaufskontrollen nach 4 Wochen, nach 3 Monaten und nach 6 Monaten (s. Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Studienablauf (Screening und Verlaufskontrollen)

Termine	Screen 1	Termin 2 (in 4 Wo.)	Termin 3 (in 3 Mo.)	Termin 4 (in 6 Mo.)
CAP	X	X	X	X
BIA, Taillenumfang	X	X	X	X
AUDIT	X			
AST, ALT, $\gamma$ -GT, AP, Bilirubin, Albumin, Quick, Kreatinin, Harnstoff	X	X	X	X
Serum Hepatitis-Serologie (A, B, C, D)	X			
HbA1c	X		X	X
Nüchtern-Insulin, C-Peptid, Nüchtern- Glukose, HOMA-IR	X	X	X	X
Lipidstatus (Gesamt-, LDL-, HDL- Cholesterin, Triglyzeride)	X	X	X	X

### **3.6 Begleitmedikation**

Die gesamte Medikation der Patienten wurde bei jedem Termin erneut dokumentiert, um Veränderungen an den Präparaten oder den Dosierungen sowie potenzielle Wechselwirkungen kontrollieren zu können. Es wurde darauf geachtet, ob eine Änderung der antidiabetischen Therapie oder eine Änderung von Medikamenten, die einen Einfluss auf den Lipidstoffwechsel haben, durchgeführt wurde, ferner ob neue Substanzen, die evtl. einen Effekt auf die NAFLD ausüben könnten, eingeleitet wurden.

Bei jedem Termin wurden die Patienten über möglicherweise neu aufgetretene Nebenwirkungen der eingeleiteten Medikation vom behandelnden Arzt befragt.

### **3.7 Beurteilung der Compliance**

Während der Studie wurde Compliance durch „intervall pill counts“ kontrolliert. Hierher wurde bei jedem Termin die Zahl der Resttableten im Medikamentenbehälter gezählt. Die Beurteilung des GLP-1 Agonisten-Verbrauchs konnte mittels Ablesens der Skalierung am Injektions-Pen durchgeführt werden.

### **3.8 Biochemische Analyse**

Es wurden folgende biochemische Analysen durchgeführt: die Leberfunktion mit Messung von Transaminasen (ALT, AST,) AP und  $\gamma$ -GT sowie Bilirubin; die Lebersynthese wurde mittels Serum-Albumin und Quickwert überprüft. Kreatinin und Harnstoff wurden ebenfalls regelmäßig bestimmt, um mögliche Medikamenten-Nebenwirkungen i.S. einer Verschlechterung der Nierenfunktion oder einer beginnenden Exsikkose rechtzeitig zu erkennen. Der Lipidstatus wurde mittels Gesamt-, LDL-, HDL-Cholesterin und Triglyzeriden beurteilt. Messungen zur Beurteilung der Glukose-Stoffwechsellage wurden ebenfalls durchgeführt; diese beinhalteten Serum-Glukose und Insulin im nüchternen Zustand zur Berechnung des HOMA-IR Scores sowie HbA1c. Durch serologische Untersuchungen wurden virale Hepatitiden (A, B, C, D) im Rahmen des Screenings ausgeschlossen.

### **3.8.1 Kontrolle des Diabetes mellitus**

Das glykierte Hämoglobin (HbA1c) markiert den durchschnittlichen Blutzuckerwert der letzten 8 bis 12 Wochen und wird bereits seit mehr als drei Jahrzehnten zur Kontrolle der Diabetes-Therapie und -Einstellung angewendet. Nathan et al. [77] zeigten, dass die Interpretation des HbA1c-Werts für das Diabetes-Management hilfreich ist. Das glykierte Hämoglobin wird aktuell ebenfalls als diagnostisches Kriterium für ein erhöhtes Diabetes-Risiko (HbA1c 5,7 - 6,4%) und Diabetes mellitus (HbA1c  $\geq$  6,5%) verwendet [90].

### **3.8.2 HOMA-IR**

Homeostasis Model Assessment-estimated Insulin Resistance (HOMA-IR) wurde 1985 von Matthews et al. [74] entwickelt und wurde bereits in vielen epidemiologischen Studien für die Bestimmung der Insulinresistenz verwendet. Die Berechnung wird durch Multiplikation der Nüchtern-Plasmaglukose mit dem Nüchtern-Plasmainsulin und nachfolgender Division durch 405 durchgeführt ( $\mu\text{IU/ml} \times \text{mg/dl} \div 405$ ). Der akzeptierte Grenzwert des HOMA-IR Scores liegt bei 2,6 [8].

## **3.9 Beurteilung des Leberfettgehalts (CAP-Messung)**

Die Quantifizierung der Steatosis hepatis wurde mit Hilfe der vibrationskontrollierten transienten Elastographie (VCTE) (FibroScan®, Echosens, Paris), und zwar mit der Methode der CAP (Controlled Attenuation Parameter)-Messung, durchgeführt. Diese wird in den europäischen Leitlinien zur Diagnose der Steatosis hepatis empfohlen [14]. Bei der Untersuchung liegt der Patient auf dem Rücken und hält seinen rechten Arm hinter den Kopf. Die Ultraschallsonde wird interkostal an der Medioaxillarlinie auf Höhe des Processus Xyphoideus aufgesetzt. Die gleichzeitig gemessenen Werte der Lebersteifigkeit [liver stiffness measurements (LSM)] wurden ebenfalls dokumentiert. VCTE wurde nach 10 gültigen Messungen durch Berechnung des Medians ermittelt. Die LSM-Ergebnisse wurden in die Auswertung eingeschlossen, wenn die Erfolgsrate  $> 60\%$ , basierend auf mindestens zehn validen Messungen, und der Interquartilabstand (IQR) / Median LSM  $\leq 30\%$  waren [14], es sei denn LSM war  $< 7,1$  kPa; in diesem Fall wurde das IQR / LSM-Verhältnis nicht berücksichtigt [11]. Die Diagnose einer Steatosis hepatis wurde ab einem CAP-Wert von  $\geq 215$  dB/m gestellt [61]. Dieses entspricht dem histologischen Steatose-Grad  $\geq$  S1, der eine milde Steatose von einer normalen Leberhistologie abgrenzt.

### **3.10 Beurteilung der Körperzusammensetzung (BIA-Messung)**

Das „Stadiometer seca217“ (Seca, Hamburg, Deutschland) wurde zur Messung der Körpergröße verwendet. Mittels eines Maßbands wurden die Messungen des Taillenumfangs (TU) durchgeführt. Die Körperzusammensetzung wurde durch die bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) mit dem Medical Body Composition Analyzer mBCA515 (Seca, Hamburg, Deutschland) beurteilt. Die Grundlage der BIA-Messung basiert auf der Tatsache, dass der menschliche Körper aus verschiedenen Gewebetypen besteht, die entsprechend unterschiedliche Widerstände darstellen. Die Impedanz ist durch die Körper-Resistenz und -Reaktanz auf einen elektrischen Wechselstrom determiniert. Resistenz bezeichnet den Wirkwiderstand  $R$  und beschreibt damit das Vermögen unterschiedlicher Gewebstypen, elektrischen Strom zu leiten. Fetthaltiges Gewebe besitzt eine schlechte Leitfähigkeit und stellt damit einen größeren Widerstand dar als zum Beispiel Muskelgewebe. Reaktanz oder auch Blindwiderstand bezeichnet die Fähigkeit eines Materials, Wechselstrom durch Aufbau einer Wechselfeldspannung zu behindern. Es kommt somit zum Auftreten einer messbaren Phasenverschiebung von Spannung und Stromstärke.

Zellmembranen können für eine Weile eine Ladung speichern, in dem sie den Strom verlangsamen und funktionieren somit als Kondensatoren. Diese Fähigkeit hängt vom aktuellen Gesundheitsstatus einer Zelle ab und wird mithilfe des Phasenwinkels gemessen. Resistenz und Reaktanz sind abhängig von der Länge und vom Volumen der intra- und extrazellulären Verteilungsräumen der Körperflüssigkeiten sowie von den Kapazitäten der Zellmembranen. Das BIA-Instrument kann Fettmasse, fettfreie Masse, Gesamtkörperwasser, Phasenwinkel und viszerales Fett bei Frequenzen von 5 und 50 kHz mithilfe von linearen Regressionsmodellen ermitteln. Die ESPEN (European Society for Enteral and Parenteral Nutrition) -Leitlinien empfehlen die BIA-Messung zur Beurteilung der Körperzusammensetzung, unter Voraussetzung eines regelrechten Flüssigkeits- und Elektrolythaushalts. [58].

### **3.11 Metabolisches Syndrom**

Die Diagnose des metabolischen Syndroms wurde gestellt, falls drei der folgenden fünf Erkrankungen vorhanden waren: abdominale Adipositas ( $TU \geq 94$  cm bei Männern und  $\geq 80$  cm bei Frauen), Dyslipidämie [erniedrigtes HDL-Cholesterol ( $< 40$  mg/dl bei Männern und  $< 50$  mg/dl bei Frauen) oder/und Triglyzeridämie ( $\geq 150$  mg/dl)], arterielle Hypertonie (systolischer Druck  $\geq 130$  mmHg, diastolischer Druck  $\geq 85$  mmHg) und erhöhte Nüchtern-Glukose ( $\geq 100$  mg/dl) [20].

### 3.12 Beurteilung des Alkoholkonsums

Der AUDIT (Alcohol Use Disorders Identifikation Test) wurde durch die WHO entwickelt. Durch zehn einfache Fragen, die schnell beantwortet werden können, werden mögliche Komplikationen des Alkoholkonsums (z.B. Alkoholabhängigkeit, schädlicher Alkoholkonsum) erkannt [42]. Eine Alkoholabhängigkeit kann mit einer Sensitivität von 97% und einer Spezifität von 92% ermittelt werden [27]. Der AUDIT-Fragebogen wurde von den Patienten beim Screeningtermin ausgefüllt.

Ein angegebener Konsum von  $\geq 30$  g Alkohol pro Tag bei Männern und  $\geq 20$  g Alkohol pro Tag bei Frauen wurde als Alkoholabusus definiert [15] und diente als Ausschlusskriterium für unsere Studie.

### 3.13 Statistische Analyse

Unser primärer Endpunkt war die Verbesserung der Steatosis hepatis, die mithilfe der CAP-Messung, nach vier Wochen sowie drei und sechs Monaten Therapie mit SGLT-2 Inhibitoren oder GLP-1 Analoga quantifiziert wurde. Sekundäre Endpunkte beinhalteten Änderungen der Leberfunktionsparameter, des Glukose- und Lipid- Stoffwechsells sowie der Körperzusammensetzung (s. Kapitel 4). Eine Subgruppenanalyse untersuchte die spezifischen Einflüsse der zwei medikamentösen Therapien auf die oben genannten Parameter. Die Kolmogorov-Smirnov und Shapiro-Wilk-Teste wurden zur Überprüfung der Normalität der Daten angewendet. Abhängig von den Ergebnissen wurden entweder der Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung oder der Median (Interquartilabstand) zur Präsentation der Ergebnisse ausgewählt und die geeigneten statistischen Teste angewendet. Mittels t-Test und Wilcoxon signed rank-Test wurden die Unterschiede zwischen zwei abhängigen Proben beurteilt. Unabhängige Proben wurden ebenfalls mittels t-Test oder Mann-Whitney U-Test evaluiert. Die Daten für die Subgruppenanalysen wurden als mediane Werte präsentiert, weil diese eine signifikante Abweichung von der Normalverteilung aufwiesen. Eine lineare Regressionsanalyse wurde wie folgt durchgeführt: die absoluten CAP-Änderungen in 6 Monaten repräsentierten die abhängige Variable und folgende Kovariaten wurden als unabhängige Variablen angewendet: Baseline-CAP, Baseline-BMI, Baseline-HOMA-IR, Gewichtsänderungen und HOMA-IR-Änderungen in 6 Monaten. Die oben genannten Analysen wurden mit den statistischen Programmen SPSS 20.0 (IBM, Ehningen, Germany) und GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA) durchgeführt. Ein zweiseitiger P Wert  $< 0,05$  definierte die statistische Signifikanz.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Patientencharakteristika

Es wurden insgesamt 39 Patienten (49% Frauen, mittleres Alter  $57,7 \pm 10,9$  Jahre) mit Diabetes mellitus Typ 2 und mittels CAP-Untersuchung nachgewiesener Steatosis hepatis ( $CAP \geq 215$  dB/m) in diese prospektive Beobachtungsstudie eingeschlossen.

Alle Patienten, bis auf einen, wurden nach Definition von Alberti et al. [20] mit metabolischem Syndrom diagnostiziert. Die begleitende antidiabetische Therapie war wie folgt: 14 Patienten spritzten lediglich Insulin; 30 nahmen Metformin ein, 10 davon spritzten auch Insulin, und davon nahmen drei ebenfalls DPP4 Inhibitoren ein; von den Patienten, die bereits Metformin in ihrer Vormedikation hatten, hatten sieben ebenfalls ein GLP-1 Analogon und zwei davon einen SGLT-2 Inhibitor. Ein Patient hatte lediglich einen DPP4 Inhibitor als antidiabetische Therapie. Als begleitende lipidsenkende Therapie hatte ein Patient ein Fibrat, 16 Patienten nahmen Statine und zwei Patienten nahmen Ezetimib ein (s. Tabellen 2 und 3).

**Tabelle 2:** Individuelle Patientencharakteristika (GLP-1 Agonisten Gruppe)

Fall	Geschlecht	Alter (Jahre)	MS	Adipositas	art. Hypertonie	Dyslipidämie	Medikation*
1	w	66	+	+	+	+	Metformin, Insulin, Statin
2	w	46	+	+	-	+	Keine
3	w	70	+	+	+	+	Statin
4	w	68	+	+	-	+	Metformin, Insulin
12	w	60	+	+	+	-	Metformin, Insulin
17	w	77	+	+	+	-	Metformin, Insulin, Statin
23	w	54	+	+	+	+	Metformin
26	m	66	+	+	+	-	Metformin
27	m	64	+	+	+	-	Statin
28	m	42	+	+	+	+	Metformin, SGLT-2 Inhibitor
32	m	56	+	+	-	+	Metformin, SGLT-2 Inhibitor, Statin
34	w	38	+	+	-	+	Metformin, Insulin
37	m	68	+	+	+	-	Metformin, Insulin, Statin
38	m	68	+	+	+	+	Insulin
39	m	76	+	+	+	+	Insulin, Statin
40	m	60	+	+	+	+	Metformin, Insulin, Statin
41	w	66	+	+	+	+	Insulin, Statin

**Tabelle 3:** Individuelle Patientencharakteristika (SGLT-2 Inhibitoren Gruppe)

Fall	Geschlecht	Alter (Jahre)	MS	Adipositas	art. Hypertonie	Dyslipidämie	Medikation*
5	w	63	+	+	+	+	Metformin, DPP4-Inhibitor
7	w	46	+	+	+	-	Metformin, GLP-1 Agonist, Statin
8	m	55	+	+	-	+	Metformin, Statin
10	m	56	+	+	+	+	Metformin, Fibrat
11	m	56	+	+	+	-	Metformin, GLP-1 Agonist, Statin
13	m	55	+	+	+	-	Metformin, GLP-1 Agonist, Insulin, Statin
14	w	44	+	+	+	-	Metformin, Insulin
15	m	68	+	+	+	+	Metformin, DPP4-Inhibitor
16	w	73	+	+	+	+	Metformin, GLP-1 Agonist
19	w	53	+	+	+	-	Metformin, GLP-1 Agonist
20	m	61	+	+	+	+	Metformin, DPP4-Inhibitor, Insulin, Ezetimib
21	m	55	+	+	+	+	Metformin, Statin
22	w	50	+	+	+	+	Metformin, GLP-1 Agonist, Statin
24	w	54	-	-	-	-	Metformin
25	m	33	+	+	-	+	DPP4-Inhibitor
29	m	32	+	+	-	+	Metformin
30	w	49	+	+	-	+	Metformin
31	w	64	+	+	+	+	Metformin, GLP-1 Agonist, Statin
33	m	56	+	+	-	+	Metformin, Insulin
35	m	62	+	+	+	+	Metformin, Ezetimib
36	m	56	+	+	+	+	Metformin, DPP4-Inhibitor
42	w	66	+	+	+	-	Keine

\*Medikation: Hier werden die Medikamente erwähnt, die gegen Diabetes mellitus und Hyperlipidämie bereits länger als 3 Monate vor Studienbeginn eingesetzt worden waren.

Abkürzungen: GLP-1 Agonisten, Glucagon-like-Peptid-1 (Rezeptor)-Agonisten; SGLT-2 Inhibitoren, Natrium-Glukose-Cotransporter 2 Inhibitoren; DPP4-Inhibitoren, Dipeptidylpeptidase 4 Inhibitoren; MS, Metabolisches Syndrom.

Die CAP-Messungen zeigten Patienten mit signifikanter hepatischer Fettakkumulation mit einem medianen Wert von 338 dB/m (311-363 dB/m). Dieser Wert entspricht histologisch dem Steatose-Grad S3 [47]. Die Messungen der Lebersteifigkeit ergaben für die Mehrheit der Patienten normale bis minimal erhöhte Werte, die einer geringgradigen Leberfibrose mit einem medianen Wert von 7,2 kPa (5,3-8,4 kPa) entsprechen.

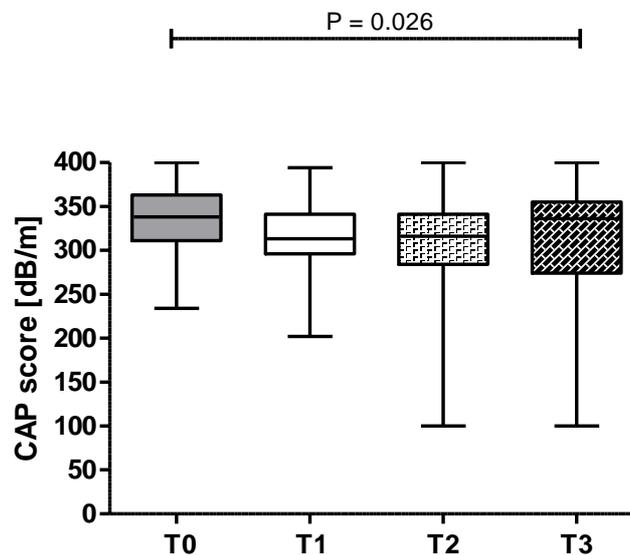
Die Aktivitäten der Transaminasen im Serum (31%; n = 3 für AST, n = 9 für ALT) und die  $\gamma$ -GT (31%) waren jeweils bei 12 Patienten erhöht. Die AP war lediglich bei drei Patienten (8%) erhöht. Was die Glukosestoffwechsellage angeht, ergab sich ein medianer Wert von 8,0 % (7,2-9,0 %) für HbA1c und von 5,9 (3,8-10,6) für den HOMA-IR Score. Letzterer war bei 36 Patienten pathologisch. Die biochemische Analyse des Lipidmetabolismus erbrachte ein erhöhtes Gesamt-Cholesterin bei 12 Patienten (31%), ferner ein erhöhtes LDL- und erniedrigtes HDL- Cholesterin bei jeweils sechs (15%) und 14 (36%) Patienten. Ferner zeigten sich erhöhte Triglyzeride im Serum bei 22 Patienten (56%).

In der gesamten Kohorte lag der mittlere BMI bei  $34,3 \pm 4,9 \text{ kg/m}^2$  und der durchschnittliche TU bei  $116 \pm 13 \text{ cm}$ . Alle Patienten, bis auf einen, waren übergewichtig (n = 7) oder adipös (n = 31). 35 Patienten präsentierten eine viszerale Adipositas, wie mithilfe der TU-Messungen und nach den IDF Grenzwerten (94 cm für Männer und 80 cm für Frauen) definiert werden konnten [20].

Tabelle 4 fasst die oben genannten „Baseline“-Patientencharakteristika zusammen.

## 4.2 Leber-assoziierte Veränderungen

Während des 6-monatigen Beobachtungszeitraums wurde eine signifikante ( $P = 0,026$ ) Reduktion der Steatosis hepatis, die mittels CAP-Messung quantifiziert wurde, in der Gesamtkohorte beobachtet. Diesbezüglich ergab sich eine absolute mediane Reduktion von -32 dB/m (-58 – 32 dB/m), die einer relativen medianen Reduktion von 8,9% entspricht. Tabelle 4 fasst die aktuellen Werte jeder Kontrolle sowie die Ergebnisse der absoluten und relativen Änderungen aller Parameter in der gesamten Beobachtungszeit zusammen. Zudem beobachteten wir 4 Wochen (T1) und 3 Monate (T2) nach Beginn der Therapie eine signifikante Änderung bzw. Reduktion der CAP-Werte im Vergleich zu den CAP-Ergebnissen zur Baseline (T0) ( $P = 0,043$  bzw.  $P = 0,029$ ). Die maximale Reduktion der CAP-Werte trat nach 4 Wochen (T1) mit einer medianen CAP-Differenz von -26 dB/m (-62 – 24 dB/m) auf. Eine weitere mediane CAP-Differenz von -2 dB/m (-40 – 34 dB/m), im Vergleich zu T1, konnte nach drei Monaten (T2) festgestellt werden. Ein leichter Anstieg von 9 dB/m (-30 – 44 dB/m) zeigte sich dann zwischen T2 und T3 nach 6 Monaten (Abbildung 3). In Bezug auf die Lebersteifigkeit ergaben sich keine Änderungen der entsprechenden Werte (LSM) in der Kohorte. Bei den Leberparametern wurden signifikante Reduktionen der ALT- und  $\gamma$ -GT-Aktivitäten ( $P = 0,002$  bzw.  $P = 0,049$ ) beobachtet.



**Abbildung 3:** CAP-Werte während der gesamten Beobachtungsperiode ( $n = 39$ ). Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der Steatosis hepatis (wie diese mithilfe der CAP-Werte dokumentiert wurde) während der 6 Monate, in denen die Patienten mit GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren behandelt wurden. Die signifikanten Reduktionen der Steatosis hepatis sind 4 Wochen und 3 Monate nach Beginn der Therapie aufgetreten, zwischen T0 und T1 sowie T0 und T2 ( $P = 0,043$  bzw.  $P = 0,029$ ).

T0 = Baseline; T1 = 4 Wochen; T2 = 3 Monate; T3 = 6 Monate.

### **4.3 Änderungen von Körperzusammensetzung und metabolischen Parametern**

Es wurde eine signifikante Reduktion der mittleren Werte für Gewicht und BMI beobachtet ( $-2,5 \pm 3,3$  kg,  $-0,9 \pm 1,2$  kg/m<sup>2</sup>;  $P < 0,0001$ ). Die BIA-Analyse ergab eine signifikante Reduktion der fettfreien Masse ( $P = 0,013$ ), der Fettmasse ( $P = 0,027$ ) und des Gesamtkörperwassers ( $P = 0,005$ ), mit entsprechenden Reduktionen der mittleren Werte wie folgt:  $-1,9 \pm 3,2$  kg,  $-4,0 \pm 7,7$  kg und  $-2,1 \pm 3,3$  l. Der Taillenumfang wurde während des Follow up minimal gesenkt, jedoch kam es nicht zu einer signifikanten Abnahme ( $-0,3 \pm 0,5$  cm). Eine eindeutige Verbesserung der Glukose-Stoffwechsellage wurde während der Beobachtungsperiode mit signifikanten Senkungen von HbA1c, Nüchtern-Glukose (beide  $P < 0,0001$ ), C-Peptid ( $P = 0,05$ ) und HOMA-IR ( $P = 0,029$ ) festgestellt. Der Nüchtern-Glukosewert verbesserte sich um  $35,5$  mg/dl ( $-69,0 - -7,0$  mg/dl); dies entspricht einer relativen Reduktion des medianen Wertes von 22%. In Bezug auf den Lipidstatus zeigte sich lediglich eine Verbesserung des HDL-Cholesterins, welches um  $3$  mg/dl ( $-1 - 7$  mg/dl) signifikant ( $P = 0,004$ ) gesenkt wurde. In der Tabelle 4 werden die Ausgangs- und Follow up-Werte sowie die Änderungen der Körperzusammensetzung und der metabolischen Parameter dargestellt.

**Tabelle 4:** Baseline- und Follow up-Daten der gesamten Kohorte

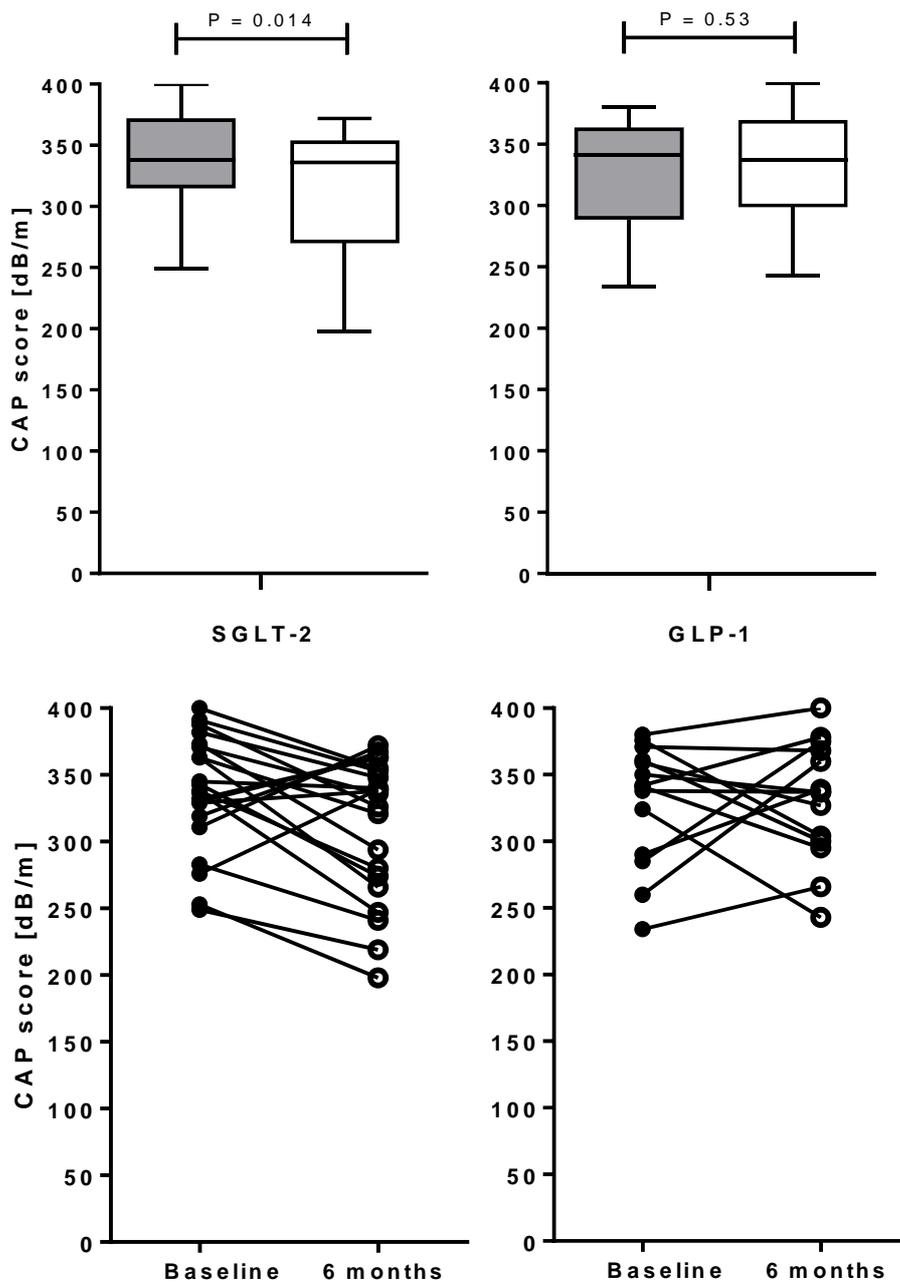
	Baseline (n=39)	4 Wochen (n=39)	3 Monate (n=39)	6 Monate (n=35)	P	Änderung	Relative Änderung
Geschlecht (m/w)	20/19						
Alter (Jahre)	57,7 ± 10,9						
<b>Transiente Elastographie</b>							
CAP (dB/m)	338 (311 – 363)	313 (296 – 341)	316 (284 – 341)	337 (280 – 360)	<b>0,026</b>	-32 (-58 – 32)	-8,9 (-16,9 – 10,0)
LSM (kPa)	6,9 (5,3 – 8,4)	6,4 (5,4 – 7,6)	6,8 (5,7 – 7,9)	6,1 (5,4 – 8,1)	0,857	-0,5 (-2,6 – 0,9)	-7,7 (-31,5 – 17,6)
<b>Anthropometrische Messungen (BIA)</b>							
Gewicht (kg)	100,8 ± 17,7	99,0 ± 18,2	98,7 ± 19,0	97,5 ± 18,3	<b>0,000</b>	-2,5 ± 3,3	-2,8 ± 3,4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	34,3 ± 4,9	33,7 ± 5,0	33,5 ± 5,3	33,3 ± 5,3	<b>0,000</b>	-0,9 ± 1,2	-2,7 ± 3,6
Fett-freie Masse (kg)	60,2 ± 11,9	59,3 ± 11,9	59,4 ± 12,0	58,3 ± 12,0	<b>0,013</b>	-1,1 ± 1,9	-1,9 ± 3,2
Fettmasse (kg)	40,6 ± 11,7	39,7 ± 11,8	39,3 ± 12,0	38,7 ± 12,1	<b>0,027</b>	-1,4 ± 3,1	-4,0 ± 7,7
Gesamtkörperwasser (l)	45,0 ± 8,0	44,3 ± 8,4	44,0 ± 9,0	43,5 ± 8,4	<b>0,005</b>	-0,9 ± 1,5	-2,1 ± 3,3
Viszerales Fett (l)	4,6 (3,2 – 6,9)	4,7 (3,5 – 6,3)	4,3 (3,2 – 6,1)	4,0 (3,0 – 6,0)	0,056	-0,6 ± 0,8	-9,5 ± 1,1
Taillenumfang (cm)	116 ± 13	114 ± 12	113 ± 14	113 ± 13	0,073	-0,3 ± 0,5	-2,8 ± 4,5
Phasenwinkel	5,1 (4,6 – 5,6)	5,3 (4,8 – 5,5)	5,2 (4,6 – 5,7)	5,2 (4,9 – 5,7)	0,105	-0,3 ± 0,3	-0,5 ± 5,2
<b>Biochemische Serumparameter</b>							
<b>Leberfunktionsparameter</b>							
AST (U/l)	24 (18 – 32)	25 (20 – 34)	22 (18 – 28)	24 (20 – 28)	0,059	-2 (-6 – 2)	-7,4 (-22,2 – 8,3)
ALT (U/l)	28 (22 – 43)	29 (22 – 44)	25 (20 – 32)	29 (20 – 41)	<b>0,002</b>	-2 (-14 – 2)	-12,5 (-30,2 – 7,4)
γ-GT (U/l)	36 (24 – 54)	31 (24 – 49)	31 (23 – 47)	33 (24 – 49)	<b>0,049</b>	-4 (-15 – 1)	-11,1 (-28,9 – 4,4)
AP (U/l)	79 (63 – 87)	74 (58 – 89)	73 (62 – 95)	73 (60 – 95)	0,623	-1 (-7 – 3)	-1,2 (-8,8 – 4,8)
<b>Glukosestoffwechsel</b>							
HbA <sub>1c</sub> (%)	8,0 (7,2 – 9,0)	N/A	7,3 (7,0 – 7,7)	7,4 (6,7 – 7,8)	<b>0,000</b>	-0,6 (-1,4 – -0,4)	-7,1 (-17,5 – -4,9)
Nüchtern-Glukose (mg/dl)	184 (140 – 212)	142 (135 – 174)	143 (130 – 160)	135 (126 – 151)	<b>0,000</b>	-35,5 (-69,0 – -7,0)	-21,6 (-33,3 – -6,3)
Insulin (mIU/ml)	12,3 (10,7 – 22,6)	9,7 (7,2 – 19,2)	12,5 (8,5 – 22,1)	12,2 (7,1 – 17,9)	0,138	-2,1 (-6,3 – 2,3)	-14,7 (-49,2 – 20,9)
C-Peptid (ng/ml)	2,7 (1,8 – 3,3)	2,3 (1,5 – 2,9)	2,7 (2,2 – 3,7)	2,3 (1,4 – 3,0)	<b>0,050</b>	-0,1 (-0,7 – 0,5)	-6,5 (-33,3 – 16,2)
HOMA-IR Score	5,9 (3,8 – 10,6)	4,1 (2,4 – 6,7)	4,6 (2,8 – 8,1)	4,1 (2,2 – 7,2)	<b>0,029</b>	-1,8 (-4,9 – -0,2)	-36,8 (-60,2 – 5,0)
<b>Lipidstoffwechsel</b>							
Gesamtcholesterin (mg/dl)	153 (118 – 259)	159 (124 – 217)	142 (106 – 192)	155 (106 – 195)	0,464	-26 (-58 – 8)	-14,5 (-30,6 – 8,0)
LDL-Cholesterin (mg/dl)	106 ± 28	104 ± 30	111 ± 33	108,3 ± 36,9	0,699	3,2 ± 25,4	3,5 ± 25,2
HDL-Cholesterin (mg/dl)	43 (37 – 49)	42 (36 – 48)	44 (40 – 51)	45 (42 – 56)	<b>0,004</b>	3 (-1 – 7)	5,7 (-2,5 – 15,8)
Triglyzeride (mg/dl)	181 ± 42	176 ± 40	179 ± 41	180,3 ± 46,2	0,857	-1,2 ± 27,1	-0,3 ± 14,4

*Abkürzungen:* ALT, Alanin Aminotransferase; AP, alkalische Phosphatase; AST, Aspartat Aminotransferase; BMI, Body Mass Index; CAP, Controlled Attenuation Parameter; γ-GT, γ-Glutamyltransferase; HbA<sub>1c</sub>, Hämoglobin A<sub>1c</sub>; HDL, High-Density-Lipoprotein; HOMA-IR, Homeostatic Model Assessment measuring Insulin Resistance; LDL, Low-Density-Lipoprotein; LSM, Liver Stiffness Measurement; TU, Taillenumfang.

Die signifikanten P-Werte wurden fett gedruckt.

#### **4.4 Hepatische Effekte der GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren**

Die Tabelle 5 fasst die Werte aller Parameter vor Beginn der Therapie und nach der 6-monatigen Beobachtungszeit, geteilt in 2 Kategorien und je nach Intervention (GLP-1 Analoga und SGLT-2 Inhibitoren), zusammen. Zwischen den beiden Patientengruppen bestanden keine Unterschiede der Baseline-Charakteristika. Diese Subgruppenanalyse wies eine signifikante ( $P = 0,014$ ) Reduktion der CAP-Werte in der Gruppe der Patienten nach, die mit SGLT-2 Inhibitoren behandelt wurden; allerdings ergab sich keine signifikante Abnahme der CAP-Werte in der Gruppe der Patienten, die GLP-1 Analoga erhielten ( $P = 0,562$ ). In der Gruppe der SGLT-2 Inhibitoren zeigte sich eine absolute mediane Reduktion um 38 dB/m ( $-58 - 9$  dB/m), die einer relativen medianen Reduktion von 11,3% ( $-17,1 - 2,7$  %) entspricht. Eine weitere Analyse ergab signifikante Änderungen der CAP-Werte 4 Wochen und 3 Monaten nach Therapiebeginn im Vergleich zu den Baseline-Werten ( $P = 0,009$  bzw.  $P = 0,035$  jeweils). Die Abbildung 4 präsentiert die CAP-Ergebnisse zur Baseline und 6 Monate nach Einleitung der Therapie für beide Kategorien sowie die dazugehörigen individuellen Daten der Patienten. Die LSM-Werte zeigten weder unter GLP-1 Analoga noch unter SGLT-2 Inhibitoren signifikante Änderungen. Eine signifikante absolute mediane Reduktion um 2 U/l der AST-Serumaktivität ( $-10 - 4$  U/l) unter SGLT-2 Inhibitoren ( $P = 0,045$ ) und der ALT-Serumaktivität ( $-9 - 0$  U/l) unter GLP-1 Agonisten ( $P = 0,029$ ) wurde beobachtet. Andere Änderungen der Leberfunktionsparameter wurden in unserer Analyse nicht festgestellt.



**Abbildung 4:**

Änderungen der Steatosis hepatis (wie diese mithilfe der CAP-Messung dokumentiert wurden) unter Behandlung mit GLP-1 Analoga und SGLT-2 Inhibitoren. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion der CAP-Werte in der Gruppe der Patienten, die SGLT-2 Inhibitoren einnahmen; allerdings kam es zu keiner signifikanten Reduktion der Steatosis hepatis mit GLP-Analoga. Die grauen Kästchen repräsentieren die CAP-Messungen der Baseline, die weißen Kästchen repräsentieren die CAP-Messungen im letzten Follow up, nach der 6-monatigen Beobachtungszeit. Die zwei unteren Grafiken demonstrieren die individuellen Patienten-Daten (CAP- Messungen) zur Baseline und beim letzten Follow up.

## **4.5 Änderungen von Körperzusammensetzung und metabolischen Parametern mit GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren**

Das Körpergewicht reduzierte sich signifikant ( $P = 0,006$ ) um  $2,3 \pm 3,8$  kg bei den Patienten, die SGLT2-Inhibitoren einnahmen, allerdings zeigte der BMI keine signifikante Abnahme ( $P = 0,069$ ). Bei den Patienten, die mit GLP-1 Agonisten behandelt wurden, kam es zu einer signifikanten ( $P < 0,0001$ ) Reduktion von beiden, Körpergewicht und BMI, um  $2,8 \pm 2,5$  kg bzw.  $1,0 \pm 1,0$  kg/m<sup>2</sup>. Die weitere Analyse der Körperzusammensetzung (Fettmasse, fettfreie Masse, Gesamtkörperwasser, Taillenumfang) erbrachte, bis auf eine signifikante Reduktion des Gesamtkörperwassers in der Gruppe der SGLT-2 Inhibitoren ( $P = 0,016$ ), keine anderen signifikanten Veränderungen.

Die biochemischen Parameter des Glukosestoffwechsels besserten sich signifikant in beiden Gruppen. Die Patienten, die SGLT-2 Inhibitoren erhielten, zeigten Reduktionen von HOMA-IR Score ( $P = 0,026$ ), Nüchtern-Glukose und HbA1c (beide  $P < 0,0001$ ). Diese Werte reduzierten sich um  $1,5$  ( $-4,9 - -0,03$ ),  $31$  mg/dl ( $-62 - -7$  mg/dl) bzw.  $0,5$  % ( $-1,9 - -0,4\%$ ). Eine noch stärkere Reduktion der Nüchtern-Glukose und des HbA1c zeigten die Patienten in der Gruppe der GLP-1 Agonisten. Diese waren signifikant ( $P = 0,006$ ) mit absoluten Reduktionen der mittleren Werte um  $49,8 \pm 35,1$  mg/dl und  $0,8 \pm 0,6$  % verbunden. In Bezug auf den Fettstoffwechsel ergab sich lediglich ein signifikanter ( $P = 0,040$ ) Anstieg der Serumkonzentration des HDL-Cholesterins um  $3,9 \pm 6,4$  mg/dl in der SGLT-2 Inhibitoren-Gruppe.

**Tabelle 5:** Ergebnisse für beide Interventionsarme (SGLT-2 Inhibitoren vs. GLP-1 Analoga)

	SGLT-2 Gruppe			GLP-1 Gruppe		
	Baseline (n=22)	6 Monate (n=21)	P	Baseline (n=17)	6 Monate (n=15)	P
Geschlecht (m/w)	12/10			8/9		
Alter (Jahre)	56 (50 – 62)			66 (56 – 68)		
<b>Transiente Elastographie</b>						
CAP (dB/m)	338 (311 – 371)	336 (274 – 353)	<b>0,014</b>	341 (316 – 360)	337 (295 – 368)	0,562
LSM (kPa)	6,4 (5,3 – 7,4)	6,1 (5,6 – 8,1)	0,438	7,4 (6,7 – 10,5)	6,1 (5,0 – 7,8)	0,568
<b>Anthropometrische Messungen (BIA)</b>						
Gewicht (kg)	95,6 (89,3 – 108,2)	94,0 (85,9 – 107,8)	<b>0,006</b>	101,7 (91,0 – 116,5)	96,8 (87,1 – 114,0)	<b>0,000</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33,2 (29,6 – 37,0)	32,1 (29,3 – 36,7)	0,069	34,8 (33,0 – 38,7)	33,1 (31,2 – 39,0)	<b>0,000</b>
Fettfreie Masse (kg)	63,3 (48,8 – 65,9)	60,8 (49,5 – 65,8)	0,052	61,5 (48,8 – 72,2)	59,2 (48,4 – 67,4)	0,296
Fettmasse (kg)	38,7 (28,8 – 48,2)	37,8 (26,7 – 44,9)	0,108	41,0 (34,0 – 51,2)	36,5 (30,1 – 50,0)	0,107
Gesamtkörperwasser (l)	46,4 (36,7 – 49,1)	44,3 (37,4 – 48,5)	<b>0,016</b>	46,3 (38,3 – 53,7)	44,3 (36,5 – 49,8)	0,300
Viszerales Fett (l)	4,1 (3,2 – 6,9)	4,0 (3,3 – 5,4)	0,305	5,2 (3,8 – 7,4)	4,5 (3,9 – 5,5)	0,211
Taillenumfang (cm)	111 (106 – 121)	112 (104 – 117)	0,427	120 (112 – 129)	118 (114 – 120)	0,160
Phasenwinkel	5,3 (5,0 – 5,6)	5,2 (4,9 – 5,5)	0,093	4,8 (4,5 – 5,3)	5,0 (4,8 – 5,7)	0,414
<b>Biochemische Serumparameter</b>						
<b>Leberfunktionsparameter</b>						
AST (U/l)	25 (18 – 35)	25 (17 – 32)	<b>0,045</b>	21 (19 – 28)	21 (20 – 25)	0,508
ALT (U/l)	32 (25 – 52)	29 (23 – 43)	0,052	26 (21 – 30)	25 (18 – 35)	<b>0,029</b>
γ-GT (U/l)	48 (28 – 71)	34 (24 – 49)	0,385	33 (24 – 51)	32 (25 – 39)	0,082
AP (U/l)	80 (66 – 87)	70 (58,5 – 87,5)	0,264	75 (61 – 106)	74 (65 – 121)	0,714
<b>Glukosestoffwechsel</b>						
HbA <sub>1c</sub> (%)	8,4 (7,2 – 9,2)	7,6 (7,1 – 8,0)	<b>0,000</b>	7,6 (7,2 – 8,8)	7,2 (6,7 – 7,6)	<b>0,006</b>
Nüchtern-Glukose (mg/dl)	160 (139 – 221)	143 (129 – 165)	<b>0,001</b>	186 (146 – 198)	129 (117 – 137)	<b>0,006</b>
Insulin (mIU/ml)	11,6 (10,7 – 16,1)	10,9 (4,6 – 15,4)	0,188	17,1 (10,9 – 25,7)	14,8 (9,7 – 31,0)	0,720
C-Peptid (ng/ml)	2,6 (1,9 – 3,1)	2,3 (1,5 – 2,8)	0,075	2,8 (1,8 – 3,3)	2,2 (1,4 – 3,0)	0,470
HOMA-IR Score	4,9 (3,8 – 8,9)	4,0 (1,5 – 4,8)	<b>0,026</b>	8,0 (5,0 – 12,3)	4,7 (2,7 – 10,4)	0,277
<b>Lipidstoffwechsel</b>						
Gesamtcholesterin (mg/dl)	165 (123 – 259)	163 (121 – 197)	0,104	153 (92 – 255)	121 (93 – 179)	0,580
LDL-Cholesterin (mg/dl)	105 (86 – 122)	112 (87 – 147)	0,105	102 (87 – 122)	98 (63 – 114)	0,055
HDL-Cholesterin (mg/dl)	46 (38 – 51)	47 (42 – 61)	<b>0,040</b>	42 (37 – 47)	43 (42 – 48)	0,093
Triglyzeride (mg/dl)	182 (166 – 205)	165 (123 – 259)	0,463	171 (141 – 192)	163 (127 – 177)	0,101

*Abkürzungen:* ALT, Alanin Aminotransferase; AP, alkalische Phosphatase; AST, Aspartat Aminotransferase; BMI, Body Mass Index; CAP, Controlled Attenuation Parameter; γ-GT, γ-Glutamyltransferase; HbA<sub>1c</sub>, Hämoglobin A<sub>1c</sub>; HDL, High-Density-Lipoprotein; HOMA-IR, Homeostatic Model Assessment measuring Insulin Resistance; LDL, Low-Density-Lipoprotein; LSM, Liver Stiffness Measurement; TU, Taillenumfang.

Die signifikanten P-Werte wurden fettgedruckt.

## 4.6 Assoziationen zwischen Variablen und Steatose-Reduktion

Die absoluten CAP-Änderungen korrelierten nicht mit den absoluten Änderungen der Körperzusammensetzung bzw. den Gewichts-, BMI-, oder Fettmasse- Änderungen. Die univariate Regressionsanalyse weist nach, dass Baseline-CAP ( $P = 0,003$ ), Baseline-BMI ( $P = 0,012$ ) und Baseline-HOMA-IR ( $P = 0,021$ ) einen signifikanten Einfluss auf die CAP-Änderung nach 6 Monaten hatten, während die Gewichts- und HOMA-IR-Änderungen ohne Effekt waren (Tabelle 6). In der multivariaten Regressionsanalyse waren die Baseline-Variablen für CAP und BMI die unabhängigen Prädiktoren für CAP-Änderungen nach 6 Monaten Therapie mit GLP-1 Analoga oder SGLT-2 Inhibitoren ( $P = 0,001$  bzw.  $P = 0,012$ ).

**Tabelle 6:** Uni- und multivariate Analyse: Determinanten der CAP-Änderungen

	<b>Koeffizient b</b>	<b>P</b>
<b>Univariate Analyse</b>		
Baseline-CAP	- 0.480	<b>0.003</b>
Baseline-BMI	0.421	<b>0.012</b>
Baseline-HOMA-IR	0.390	<b>0.021</b>
Gewichtsänderung	0.111	>0.05
HOMA-IR-Änderung	- 0.153	>0.05
<b>Multivariate Analyse</b>		
Baseline-CAP	- 0.483	<b>0.001</b>
Baseline-BMI	0.377	<b>0.012</b>
Baseline-HOMA-IR	0.204	>0.05

*Abkürzungen:* BMI, Body Mass Index; CAP, Controlled Attenuation Parameter; HOMA-IR, Homeostatic Model Assessment measuring Insulin Resistance.

## **4.7 Hepatisches Ansprechen auf GLP – 1 Agonisten und SGLT – 2 Inhibitoren**

Insgesamt zwei Drittel der Probanden sprachen auf die Medikation an, d.h., sie hatten geringere CAP-Werte nach der 6-monatigen Beobachtungszeit. Die Subgruppenanalyse zeigte dementsprechend Ansprechsraten von 71% in der Gruppe der SGLT-2 Inhibitoren und 60% in der Gruppe der GLP-1 Analoga. Eine weitere Analyse wies folgende Baseline-Parameter als Einflussfaktoren für das Ansprechen auf die Medikation nach: Baseline-BMI (der niedriger bei Ansprechen war), Baseline-CAP-Werte (die signifikant höher bei Ansprechen waren): 360 (338 – 372) dB/m versus 315 (281 – 331) dB/m,  $P = 0,002$ . Ferner hatten die Patienten, die auf die Therapie ansprachen, im Vergleich zu den Patienten ohne Ansprechen eine niedrigere Baseline-LSM ( $P = 0,008$ ) und niedrigere Baseline-Serumaktivitäten der AST und ALT ( $P = 0,029$  bzw.  $P = 0,026$ ). Tabelle 7 fasst alle Werte zusammen.

**Tabelle 7:** Hepatisches Ansprechen vs. Nicht-Ansprechen

	Hepatisches	
	Ansprechen	Nicht-Ansprechen
Geschlecht (m/w)	11/13	8/10
Alter (Jahre)	56 (54 – 67)	60 (50 – 65)
<b>Transiente Elastographie</b>		
CAP (dB/m)	360 (338 – 372)	315 (281 – 331)*
LSM (kPa)	5,9 (4,9 – 7,4)	8,3 (6,7 – 11,6)*
<b>Anthropometrische Messungen (BIA)</b>		
Gewicht (kg)	95 (84 – 110)	106 (98 – 120)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	33,2 (29,4 – 37,0)	34,8 (33,0 – 40,5)*
Fettfreie Masse (kg)	58,3 (47,9 – 65,5)	69,6 (51,8 – 75,5)
Fettmasse (kg)	37,6 (29,8 – 46,2)	48,2 (34,9 – 54,5)
Gesamtkörperwasser (l)	44 (36 – 48)	51 (40 – 55)
Viszerales Fett (l)	4,1 (3,2 – 6,8)	6,2 (3,5 – 9,2)
Taillenumfang (cm)	114 (105 – 123)	122 (112 – 134)
Phasenwinkel	5,1 (4,6 – 6,7)	6,2 (4,6 – 5,6)
<b>Biochemische Serumparameter</b>		
<b>Leberfunktionsparameter</b>		
AST (U/l)	21 (18 – 27)	28 (26 – 40)*
ALT (U/l)	27 (22 – 32)	42 (27 – 72)*
γ-GT (U/l)	37 (24 – 53)	43 (29 – 71)
AP (U/l)	76 (62 – 101)	80 (69 – 84)
<b>Glukosestoffwechsel</b>		
HbA <sub>1c</sub> (%)	8,0 (7,3 – 8,9)	8,2 (7,2 – 20,0)
Nüchtern-Glukose (mg/dl)	169 (140 – 200)	188 (141 – 230)
Insulin (mIU/ml)	12,0 (10,0 – 23,6)	15,3 (11,9 – 17,5)
C-Peptid (ng/ml)	2,3 (1,5 – 3,1)	2,5 (1,9 – 3,8)
HOMA-IR Score	5,8 (3,8 – 10,6)	7,8 (3,8 – 10,9)
<b>Lipidstoffwechsel</b>		
Gesamtcholesterin (mg/dl)	179 (144 – 209)	171 (156 – 202)
LDL-Cholesterin (mg/dl)	104 (77 – 122)	94 (88 – 121)
HDL-Cholesterin (mg/dl)	44 (38 – 49)	45 (37 – 52)
Triglyzeride (mg/dl)	152 (124 – 238)	165 (96 – 258)

Als hepatisches Ansprechen wurde die Gruppe definiert, die niedrigere CAP-Werte nach der 6-monatigen Beobachtungszeit im Vergleich zur Baseline präsentierte.

Die P-Werte zwischen den Gruppen (Ansprechen, Nicht-Ansprechen) wurde mithilfe des Mann-Whitney U-Tests bestimmt (\*P ≤ 0,05, <sup>§</sup>P ≤ 0,01).

*Abkürzungen:* ALT, Alanin Aminotransferase; AP, alkalische Phosphatase; AST, Aspartat Aminotransferase; BMI, Body Mass Index; CAP, Controlled Attenuation Parameter; γ-GT, γ-Glutamyltransferase; HbA<sub>1c</sub>, Hämoglobin A<sub>1c</sub>; HDL, High-Density-Lipoprotein; HOMA-IR, Homeostatic Model Assessment measuring Insulin Resistance; LDL, Low-Density-Lipoprotein; LSM, Liver Stiffness Measurement; TU, Taillenumfang.

## 5. Diskussion

### 5.1 Studienergebnisse

Es wurden bereits multiple Studien, sowohl im Tiermodell als auch bei Menschen, durchgeführt, die den Einfluss der GLP-1 Agonisten und SGLT-2 Inhibitoren auf die NAFLD überprüften. Ziel dieser Studie war die Beurteilung des Einflusses medikamentöser Therapien auf die NAFLD bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mittels der nicht-invasiven CAP-Messung. Hier konnte eine signifikante Reduktion der Steatosis hepatis um 9% bei Patienten, die für 6 Monate lang mit SGLT-2 Inhibitoren oder GLP-1 Agonisten behandelt wurden, nachgewiesen werden. Dies entsprach einer absoluten medianen CAP-Reduktion um 32 dB/m. Signifikante Verbesserungen der biochemischen Parameter, die die Leberfunktion und den Glukosestoffwechsel repräsentieren, wurden ebenfalls beobachtet und zwar Reduktionen von ALT,  $\gamma$ -GT, HbA1c, Nüchtern-Glukose und HOMA-IR. Die weitere Analyse des Ansprechens in Bezug auf die Steatosis hepatis zeigte, dass bei Patienten mit höheren CAP-Werten zu Beginn der Studie eine deutlichere Verbesserung der Steatosis hepatis erzielt werden konnte. Patienten mit schwerer Steatosis hepatis stellen eine definierte Zielgruppe für die Therapie dar. In unserer Studie wurden zudem tendenziell niedrigere Werte für BMI, LSM und Transaminasen zur Baseline bei den Patienten, die auf die Therapie ansprachen, beobachtet. Die Regressionsanalyse wies ebenfalls eine Korrelation zwischen CAP-Änderungen und BMI sowie HOMA-IR zur Baseline nach. Es zeigte sich eine stärkere CAP-Reduktion bei den Patienten, die niedrigere Werte für Baseline-Parameter hatten. Dieses lässt vermuten, dass bei Patienten mit fortgeschrittener metabolischer Dysbalance eine Steatose-Reduktion mit GLP-1 Agonisten- oder SGLT-2 Inhibitoren-Therapie schwerer zu erreichen ist.

Bis dato ist diese Studie die zweite, die die anti-steatogenen Wirkungen der o.g. antidiabetischen Medikamente mittels CAP systematisch beurteilt. Eine prospektive-randomisierte, open-label Studie überprüfte die Effekte von Dapagliflozin auf NAFLD und Leberfibrose ebenfalls mithilfe der transienten Elastographie (CAP und LSM) bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 [98]. Eine signifikante CAP-Reduktion (von  $314 \pm 61$  auf  $290 \pm 73$  dB/m) wurde in der Dapagliflozin-Gruppe (5 mg/d für 24 Wochen) nachgewiesen. Zudem zeigte sich eine Reduktion der LSM bei Patienten mit signifikanter Leberfibrose.

In zwei weiteren „Proof of concept“-Studien wurden bisher TE mit CAP angewendet: Eine Studie berichtet über nicht signifikante CAP-Reduktionen in 4 von 5 Fällen nach 24 Wochen Behandlung mit SGLT-2 Inhibitoren [4]. Die zweite Studie erfolgte als Teil einer retrospektiven Analyse und ergab keine signifikanten CAP-Reduktionen nach 12 Wochen

Behandlung mit einem GLP-1 Analogon [96]. In ähnlicher Weise ergab unsere Subgruppenanalyse keine signifikanten CAP-Änderungen bei den Patienten, die GLP-1 Analoga erhielten. Dagegen zeigte sich bei den Patienten, die mit SGLT-2 Inhibitoren behandelt wurden, eine signifikante Verbesserung der Steatosis hepatis mit einer medianen Reduktion der CAP-Werte um 11%. Weitere Verbesserungen der Glukosestoffwechsel-Parameter, Serum-AST und Körperzusammensetzung wurden ebenfalls in dieser Gruppe dokumentiert. Während der Beobachtungszeit dieser Studie wurden keine relevanten Nebenwirkungen beobachtet, weder bei den Patienten, die SGLT-2 Inhibitoren erhielten, noch bei denen, die in der GLP-1 Gruppe waren.

## **5.2 Vorarbeiten zu den Effekten von GLP-1 Agonisten auf die NAFLD**

Es wurden mehrere Studien zu den Effekten von GLP-1 Agonisten auf die NAFLD durchgeführt. Die Ergebnisse erscheinen oft variabel, mit sowohl positiven [7, 21, 28, 84, 111], als auch negativen Befunden [96, 101, 107]. Zum Beispiel wurde in einer randomisierten und plazebo-kontrollierten Studie 1,8 mg Liraglutid für 12 Wochen an 17 übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 verabreicht [101]. Eine Reduktion des Fettlebergehaltes konnte mittels H-MRS (Proton Magnetic Resonance Spectroscopy) nicht dokumentiert werden. Leberfunktionsparameter und BMI zeigten ebenfalls keine Verbesserung. Allerdings wurde über eine Verbesserung der Glukosestoffwechsellage, insbesondere der Nüchtern-Glukose (von  $8,3 \pm 0,3$  mmol/l auf  $7,3 \pm 0,4$  mmol/l;  $P = 0,001$ ) und des HbA1c (von  $7,4 \pm 0,2$  % auf  $6,7 \pm 0,2$  %;  $P < 0,001$ ), berichtet. Ähnliche Verbesserungen des Glukosestoffwechsels wurden in unserer Studie beobachtet. Tang et al. [107] konnten ebenfalls keine signifikante Verbesserung der MR-gemessenen Fettleber-Parameter bei Diabetes mellitus Typ 2-Patienten nach 12 Wochen Liraglutid-Therapie im Vergleich zu Insulin glargin aufzeigen. Die Verbesserung der Glukose-Stoffwechsellage war in beiden Gruppen identisch, wobei eine BMI-Reduktion lediglich in der Liraglutid-Gruppe beobachtet werden konnte. Für die negativen Ergebnisse der oben genannten Studien könnte die geringe Gewichtsabnahme der Probanden als Erklärung dienen, ferner die relativ niedrigen Baseline-Werte für HbA1c, Triglyzeride und Körper-Fettmasse [84]. Tang et al. postulierten, dass eine gesteigerte hepatische Lipogenese, die aus der postprandial gesteigerten Insulinsekretion und der gehemmten Glukagonproduktion unter GLP-1 Agonisten resultiert, einen negativen Einfluss auf die NAFLD ausüben könnte [107]. Seko et al. [96] evaluierten ein anderes GLP-1 Analogon, Dulaglutid, in einer Dosierung von 0,75 µg wöchentlich bei 15 Patienten mit Biopsie-gesicherter NAFLD und Diabetes mellitus

Typ 2. Bei fünf Patienten wurden eine transiente Elastographie mit CAP-Messung sowie eine BIA-Messung vor und nach der Therapie durchgeführt. Es wurden signifikante Reduktionen der Transaminasen, sowie des HbA1c (von  $6,8 \pm 0,2\%$  auf  $6,2 \pm 0,1\%$ ;  $P = 0,001$ ) und des BMI (von  $28,2 \pm 1,2 \text{ kg/m}^2$  auf  $27,7 \pm 1,1 \text{ kg/m}^2$ ;  $P = 0,012$ ) beobachtet. Außerdem wurde eine signifikante Reduktion der Lebersteifigkeit nachgewiesen (von  $9,3 \pm 1,9 \text{ kPa}$  auf  $6,9 \pm 1,2 \text{ kPa}$ ;  $P = 0,043$ ), jedoch kam es zu keiner signifikanten Verbesserung der CAP-Werte ( $313,6 \pm 9,8 \text{ dB7m}$  und  $333,4 \pm 13,5 \text{ dB/m}$ ;  $P = 0,08$ ). In einer randomisierten Studie wurden die Effekte einer GLP-1 Agonistentherapie auf Gewicht und NAFLD mit denen einer Lebensstilmodifikation verglichen. 30 adipöse Patienten mit NAFLD (mittels MRI diagnostiziert) wurden rekrutiert und in je eine Gruppe (Lebensstilmodifikation: Kalorienrestriktion und moderate körperliche Tätigkeit mit Ziel einer Gewichtsreduktion von 5% versus Liraglutid-Therapie, 3mg/d über 26 Wochen) randomisiert. In beiden Gruppen wurden ähnliche Reduktionen von Gewicht, ALT und NAFLD beobachtet. Jedoch kam es in der Liraglutid-Gruppe 26 Wochen nach Absetzen der Therapie zu einem erneuten Anstieg dieser Parameter. Im Gegenteil dazu waren in der Gruppe der Patienten, die eine Lebensstilmodifikation durchgeführt hatten, nach Abschluss der Nachbeobachtungszeit Gewicht, ALT und NAFLD unverändert. Nach den ersten 26 Wochen wurde allen Patienten lediglich zur Vermeidung einer Gewichtszunahme geraten [51].

Tatsächlich wurden bereits positive Leber-assoziierte Ergebnisse unter Behandlung mit GLP-1 Analoga in einigen Studien gezeigt. In einer Studie von Cuthbertson et al. [22] konnte eine Steatose-Reduktion nach 6 Monaten Therapie mit GLP-1 Agonisten erzielt werden, die mittels MRS nachgewiesen wurde. Ferner zeigte sich ein Zusammenhang der Steatose- mit der HbA1c- Reduktion, eine Assoziation mit der Gewichtsabnahme zeigte sich jedoch nicht. Diese Ergebnisse legen nahe, dass es andere Mechanismen gibt, durch welche GLP-1 Agonisten wirken und entsprechen somit den Ergebnissen dieser Studie. Im Gegensatz dazu, ergab die Lira-NAFLD-Studie [84] eine signifikante Reduktion der mittels MRS gemessenen Steatose um 31% bei 68 Patienten mit nicht adäquat kontrolliertem Diabetes mellitus Typ 2 (HbA1c > 7%) und NAFLD nach 6 Monaten (1,2 mg Liraglutid täglich), die eine sehr starke Assoziation mit der Gewichtsabnahme widerspiegelte. HbA1c, ALT-,  $\gamma$ -GT- und TG-Serumkonzentrationen nahmen signifikant ab, und Körpergewicht sowie BMI zeigten eine Reduktion von  $99,5 \pm 19,6 \text{ kg}$  auf  $95,9 \pm 19,2 \text{ kg}$  ( $P < 0,0001$ ) bzw. von  $35,9 \pm 6,8 \text{ kg/m}^2$  auf  $34,7 \pm 6,8 \text{ kg/m}^2$  ( $P < 0,0001$ ). In ähnlicher Weise wurden in unserer Studie in der GLP-1 Agonisten-Gruppe signifikante Reduktionen der medianen Werte für Körpergewicht, BMI und HbA1c beobachtet. Die Autoren der Lira-NAFLD-Studie gingen davon aus, dass die

leberassoziierten Verbesserungen vom Körpergewichtsverlust abhängig waren, weil Patienten, deren Körpergewicht gleich blieb, keine positiven Ergebnisse bezüglich ihrer Steatosis hepatis aufwiesen. Andere Faktoren, die eine signifikante Korrelation mit dem Rückgang der Steatose zeigten, waren das Ausgangsgewicht und die Baseline-Werte für HbA1c und Triglyzeride. Armstrong et al. [7] führten erstmals eine doppel-blinde, randomisierte, plazebo-kontrollierte Studie durch, die histologisch eine Abheilung der NASH bei 9 von 23 normalgewichtigen Patienten (mit histologisch gesicherter NASH) nach 48 Wochen Liraglutid nachweisen konnte. Außerdem zeigte sich eine langsamere Fibrose-Entwicklung. Im Gegenteil dazu, wurde bei lediglich 2 von 22 Patienten in der Plazebo-Gruppe ein Abklingen der NASH beobachtet. Ein begleitender Diabetes mellitus hatte keinen Einfluss auf die Ergebnisse. Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 durften in dieser Studie eingeschlossen werden, vorausgesetzt sie wiesen eine stabile Stoffwechsellage (definiert durch HbA1c < 9%) auf. In einer aktuellen Studie mit Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und NAFLD bewirkte eine 3-monatige Liraglutid-Therapie (0,6-1,2mg/d) eine stärkere Gewichtsreduktion und eine effektivere Reduktion der Serum-Glukose und der Inflammationsparameter im Vergleich zu Metformin (1000-1500mg/d) [111]. Eine 6-monatige Behandlung mit Dulaglutid führte zur signifikanten Reduktion der Leberfunktionsparameter (AST, ALT,  $\gamma$ -GT) bei 1499 Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus. Die Subgruppenanalyse ergab eine deutlichere Reduktion der ALT in der Gruppe der Patienten, die zusätzlich eine NAFLD/NASH aufwiesen [21].

### **5.3 Pathophysiologische Mechanismen, die den Einfluss der GLP-Agonisten auf die NAFLD erklären**

Der positive Einfluss der GLP-1 Agonisten auf die NAFLD kann durch eine Verbesserung der Insulinsensitivität des adipösen Gewebes erklärt werden. Diese ist die Folge einer zentral regulierten Gewichtsabnahme, vor allem einer Abnahme der Körperfettmasse und führt durch Hemmung der Lipolyse zur Reduktion der freien Fettsäure im Plasma sowie zur verminderten Sekretion von proinflammatorischen Mediatoren aus dem Fettgewebe. Die Wirkungen der GLP-1 Agonisten auf das Fettgewebe und die dadurch resultierte Suppression der proinflammatorischen Adipokine und des oxidativen Stresses können die positiven Effekte auf NASH und Fibrose erklären [33]. Die Abnahme der Steatosis hepatis könnte auch auf die verbesserte Glukose-Stoffwechsellage, die geringere Hyperinsulinämie und die damit verbundene Abnahme der hepatozellulären Lipogenese zurückzuführen sein. Die Assoziation der Steatose-Reduktion mit der Verbesserung des Glukosestoffwechsels ohne Änderung der Körperzusammensetzung betont die Rolle der Leberfunktion für die Regulation des

Metabolismus bei adipösen Menschen [22]. Die direkte Wirkung der GLP-1 Agonisten auf die Leber wird aktuell kontrovers diskutiert. Die Expression von GLP-1 Rezeptoren an humanen Leberzellen wurde bereits postuliert [104]; andere konnten allerdings deren Existenz nicht beweisen [23].

#### **5.4 Vorarbeiten zu den Effekten von SGLT-2 Inhibitoren auf die NAFLD**

Die positiven Effekte der SGLT-2 Inhibitoren auf die NAFLD, die Körperzusammensetzung und den Glukosestoffwechsel wurden mehrfach im Tiermodell und bei Patienten untersucht und bestätigt. Yokono et al. [119] stellten eine Reduktion der Körper-Fettmasse bei mit Ipragliflozin behandelnden adipösen Mäusen fest. Die Studie von Hayashizaki-Someya et al. [40] zeigte eine Steatose- und Fibrose-Reduktion bei Mäusen nach Ipragliflozin-Behandlung. Tahara et al. [105] beobachteten eine Verbesserung der Insulinsensitivität, des Lipidstatus und der Adipositas sowie eine Reduktion der NAFLD-Progression bei Mäusen unter fettreicher Diät und mit Streptozotocin-induziertem Diabetes mellitus Typ 2 nach Initiierung einer Ipragliflozin-Therapie. In einer weiteren Studie ergaben sich bei Mäusen unter Ipragliflozin eine Verbesserung der Steatosis hepatis sowie bei Menschen unter Ipragliflozin, unabhängig von Gewichtsveränderungen, eine Reduktion der Leberparameter [54]. In einer kleinen open-label Studie führte eine Therapie mit Dapagliflozin (5 mg/d) nach 24 Wochen zur Reduktion des viszeralen Fettes und zur Verbesserung der Leberwerte und metabolischer Parameter (FIB-4 Score, Insulin, Adiponectin) bei 16 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und histologisch diagnostizierter NASH [112]. In einer weiteren Studie wurden fünf Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und Steatosis hepatis 24 Wochen mit Canagliflozin (100 mg/d) behandelt. Die Autoren berichteten über eine histologische Verbesserung bzw. über eine Reduktion der NAFLD-Aktivität ohne Änderungen des Fibrose-Stadiums. Reduktionen von BMI, Taillenumfang sowie der Nüchtern-Glukose und der  $\gamma$ -GT wurden ebenfalls gemessen. Die CAP-Werte zeigten sich im Laufe der Kontrollen rückläufig, jedoch war diese Reduktion nicht signifikant [4]. Ähnlich wie in dieser Studie zeigte eine retrospektive Studie Verbesserungen von HbA1c, Transaminasen und Körpergewicht bei 24 Patienten mit histologisch gesicherter NAFLD nach 24 Wochen Canagliflozin- oder Ipragliflozin-Therapie [97]. Itani und Ishihara [45] zeigten in einer prospektiven open-label Studie signifikante Reduktionen von Serumglukose, HbA1c, AST, ALT,  $\gamma$ GT und Ferritin sowie des FIB-4 Index und des Körpergewichts bei Patienten mit NAFLD und Diabetes mellitus Typ 2, die eine Canagliflozin-Therapie (100 mg/d) für 24 Wochen erhielten. In einer prospektiv-randomisierten Studie [56] konnte eine signifikante Steatose-Reduktion (beurteilt mittels MRI) bei Patienten mit Diabetes

mellitus Typ 2, die mit Empagliflozin (10 mg/d) für 20 Wochen behandelt wurden, gezeigt werden. Miyake et al. [75] rekrutierten 43 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und NAFLD (12 mit Biopsie-gesicherter NASH und 31 mit Ultraschall-diagnostizierter Fettleber). Eine Ipragliflozin-Therapie (50 mg/d) wurde für 24 Wochen durchgeführt. Es konnten signifikante Reduktionen von HbA1c, Transaminasen und Körpergewicht beobachtet werden. Außerdem zeigte sich eine signifikante Abnahme der Leber-Steatose, die mittels CAP bei 6 Patienten quantifiziert werden konnte (mediane CAP-Werte: 286 versus 258 dB/m). In einer Placebo-kontrollierten open-label Studie konnten signifikante Verbesserungen für Steatose, „Ballooning“ und Fibrose bei 9 Patienten mit bioptisch gesicherter NASH und Diabetes mellitus Typ 2 nach einer Empagliflozin-Therapie (25mg/d für 24 Wochen) dokumentiert werden [59]. Die randomisierte placebo-kontrollierte Studie von Aso et al. [9] konnte eine signifikante Reduktion der Leberfunktionsparameter nach 24 Wochen Dapagliflozin-Therapie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und NAFLD nachweisen. Shimizu et al. [98] beobachteten in einer prospektiven-randomisierten, open-label Studie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 eine signifikante CAP-Reduktion (von  $314 \pm 61$  auf  $290 \pm 73$  dB/m) in der Dapagliflozin-Gruppe (5 mg/d für 24 Wochen). Ebenfalls konnten signifikante Reduktionen von HbA1c (von  $8,4 \pm 1,5\%$  auf  $7,4 \pm 1,2\%$ ), AST, ALT und  $\gamma$ GT demonstriert werden. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen unserer Studie überein. Zudem konnte eine Reduktion der LSM lediglich bei Patienten mit signifikanter Leberfibrose ( $LSM \geq 8,0$  kPa) beobachtet werden. Signifikante Reduktionen des Körpergewichts sowie des viszeralen und subkutanen Fettes (gemessen mittels BIA) wurden ebenfalls in der Dapagliflozin-Gruppe beobachtet. Ähnlich wie in unserer Studie konnten keine Assoziationen zwischen CAP-Änderungen und Änderungen des Körpergewichts, des BMI oder des viszeralen Fettes nachgewiesen werden, jedoch zeigte sich eine signifikante Korrelation der HbA1c- und der CAP-Werte. Marjot et al. [71] konnten allerdings nach 12 Wochen Dapagliflozin-Therapie bei 10 übergewichtigen bzw. adipösen Patienten mit Insulinresistenz, aber ohne Diabetes mellitus Typ 2, keine Verbesserung der Lebersteatose (mittels MRS) nachweisen, obwohl eine Gewichtsreduktion von 4,4 kg beobachtet wurde. Dieses negative Ergebnis könnte darauf hinweisen, dass der positive Effekt der SGLT-2 Inhibitoren auf die NAFLD mit den positiven Wirkungen auf den Diabetes verknüpft ist.

## **5.5 Pathophysiologische Mechanismen, die den Einfluss der SGLT-2 Inhibitoren auf die NAFLD erklären**

Die möglichen Mechanismen, die den Ergebnissen der oben genannten Studien zugrunde liegen und den positiven Einfluss der SGLT-2 Inhibitoren auf die NAFLD/NASH erklären, können wie folgt zusammengefasst werden: Die Verbesserungen der Körperzusammensetzung, die bereits in mehreren Studien im Sinne einer Reduktion der Körperfettmasse, insbesondere des Viszeralgewebes beobachtet wurden, implizieren eine Verschiebung des Energieverbrauchs von Glukose auf Fettsäure und Ketone [119]. Jedoch können noch andere Wirkungsmechanismen der SGLT-2 Inhibitoren, unabhängig von der Körpergewichtsreduktion, zur NAFLD-Reduktion führen. Die Glukosurie und der dadurch induzierte Kalorienverlust führen zur Verminderung der Hyperinsulinämie. Die verminderte Insulinproduktion führt einerseits zur verbesserten Insulinsensitivität der Adipozyten und konsekutiv zur Verbesserung der anabolen Kapazität des Fettgewebes mit Vermeidung einer „ektopischen“ hepatischen Fettakkumulation [54]. Andererseits werden die  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren gesteigert und die de novo Lipogenese der Leber gehemmt, Effekte, die zur weiteren Reduktion der hepatischen Fettdeposition und Verbesserung der Steatosis hepatis beitragen [40, 44, 119]. Andere mögliche Wirkmechanismen der SGLT-2 Inhibitoren, die in einzelnen Studien beschrieben wurden, sind die gesteigerte Glukagon-Sekretion, die die Lipogenese hemmt [10, 80], die Stimulation der Adiponectin-Produktion, die die Insulinsensitivität fördert [80] und die Reduktion der sDPP4, die eine wesentliche Rolle in der Interaktion zwischen Fettgewebe und Leber und somit sehr wahrscheinlich auch in der Pathogenese der NAFLD spielt [9].

„Der prinzipielle Unterschied der SGLT-2 Inhibitoren zu den meisten herkömmlichen hypoglykämischen Substanzen liegt in der Reduktion der Versorgung der Zelle mit Glukose im Gegensatz zur Erzwingung der Glukoseaufnahme, sei es durch Erhöhung der Insulinkonzentration oder der -sensitivität“, so Prof. Dr. E. Windler in seinem Kommentar bezüglich zur EMPA-REG Studie [116]. Der Wirkmechanismus der SGLT-2 Inhibitoren imitiert den Ansatz der nutritiven Ketose, allerdings nicht durch Glukoserestriktion, sondern durch Glukosurie. Dadurch ergeben sich die positiven Einflüsse auf die Glukose-Homöostase. Ferner wird der Energieverbrauch von Glukose auf Fettsäure und Ketone verschoben.

## **5.6 Vorteile der Studie**

Die Vorteile unserer Studie liegen in ihrer prospektiven Natur. Mithilfe der CAP-Messung, die eine nicht-invasive, kostengünstige Methode zur Quantifizierung der Lebersteatose und Fibrose darstellt, konnten wir ohne Risiko für die Patienten multiple Kontrollen durchführen. Die Zuverlässigkeit dieser Methode wurde bereits mehrfach belegt [6, 47, 48, 110, 117]. Ferner war eine Lebensstilmodifikation zum Erreichen eines Therapieerfolgs nicht notwendig, was sich positiv auf die Zusammenarbeit mit den Patienten auswirkte.

## **5.7 Limitationen der Studie**

Die Einschränkungen dieser Studie liegen an ihrem Studiendesign. Eine Limitation ist die Tatsache, dass ein Placebo-Effekt nicht sicher ausgeschlossen werden kann, da diese Studie keine verblindete Interventionsstudie ist. Die nicht signifikante Reduktion der Steatosis hepatis in der GLP-1-Gruppe könnte an der relativ kleinen Kohorte und der dadurch bedingten geringen statistischen Power zur Detektion eines Unterschieds liegen. Weitere große, randomisierte Studien sind erforderlich, um den Effekt der von uns getesteten Antidiabetika auf die NAFLD zu überprüfen. Eine signifikante Reduktion der Leberfibrose konnte in unserer Studie nicht beobachtet werden. Ein Grund dafür könnte der Ausschluss von Patienten mit fortgeschrittener Leberfibrose sein.

## **5.8 Perspektiven**

Es wurde postuliert, dass Diabetiker ein erhöhtes Risiko für die Progression zu den ungünstigen NAFLD-Stadien (NASH, Fibrose, Zirrhose) haben. Aus diesem Grund stellt diese Patientengruppe eine besondere Zielgruppe für die Entwicklung einer Pharmakotherapie der NAFLD dar. Bisher existiert keine evidenzbasierte medikamentöse Therapie für die Behandlung der NAFLD. Weitere größere, randomisierte, plazebo-kontrollierte Studien sind erforderlich, um den Einfluss der SGLT-2 Inhibitoren und der GLP-1 Agonisten auf die NAFLD besser beurteilen zu können. Außerdem sind Studien notwendig, um die längerfristigen Einflüsse der GLP-1 Agonisten- und SGLT-2 Inhibitoren-Therapie auf die NAFLD zu erforschen.

Ein interessanter Aspekt, der weiter untersucht werden sollte, ist der Effekt der GLP-1 Agonisten und der SGLT-2 Inhibitoren bei Diabetikern mit fortgeschrittenen NAFLD-Stadien

(fortgeschrittene Fibrose, Zirrhose). Für eine exakte Beurteilung der Fibrosestadien und deren Entwicklung während der Therapie wären große, Biopsie-kontrollierte Studien erforderlich.

In Studien wurde bereits bewiesen, dass die Insulinresistenz der fundamentale Pathomechanismus ist, der die NAFLD mit dem Diabetes mellitus Typ 2 verbindet. Daher stellen die von uns getesteten Antidiabetika, die die Insulinresistenz verbessern können, eine gute Therapie für beide Entitäten dar. Die meisten Studien rekrutierten Patienten, bei denen beide Diagnosen festgestellt wurden. Armstrong et al [7] berichteten über eine histologische Heilung bei Patienten mit NASH, unabhängig davon, ob ein Diabetes mellitus vorlag oder nicht, nach 48 Wochen einer Liraglutid-Therapie. Marjot et al [71] konnten allerdings nach 12 Wochen Dapagliflozin-Therapie bei 10 übergewichtigen bzw. adipösen Patienten mit Insulinresistenz, aber ohne Diabetes mellitus Typ 2, keine Verbesserung der Lebersteatose nachweisen. Weitere Studien sollten den Effekt der GLP-1 Agonisten und der SGLT-2 Inhibitoren auf NAFLD bei Patienten ohne Diabetes mellitus überprüfen, damit der Anwendungsbereich dieser Medikamente erweitert werden kann.

## 6. Literatur

- [1] Agency, E.M. 2016. SGLT2 inhibitors : PRAC makes recommendations to minimise risk of diabetic ketoacidosis: Healthcare professionals should be aware of possible atypical cases. EMA/100751, February (2016), 1–2.
- [2] Ahlqvist, E. et al. 2018. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. (2018). DOI:[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30051-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30051-2).
- [3] Ahmadieh, H. and Azar, S.T. 2014. Liver disease and diabetes: Association, pathophysiology, and management. *Diabetes Research and Clinical Practice*.
- [4] Akuta, N., Watanabe, C., Kawamura, Y., Arase, Y., Saitoh, S., Fujiyama, S., Sezaki, H., Hosaka, T., Kobayashi, M., Kobayashi, M., Suzuki, Y., Suzuki, F., Ikeda, K. and Kumada, H. 2017. Effects of a Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitor in Nonalcoholic Fatty Liver Disease Complicated by Diabetes Mellitus: Preliminary Prospective Study Based On Serial Liver Biopsies. *HEPATOLOGY COMMUNICATIONS*. (2017). DOI:<https://doi.org/10.1002/hep4.1019>.
- [5] American Diabetes Association/ADA 2018. American Diabetes Association. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes - 2018. *Diabetes Care*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.2337/dc18-S002>.
- [6] Andrade, P., Rodrigues, S., Rodrigues-Pinto, E., Gaspar, R., Lopes, J., Lopes, S. and Macedo, G. 2017. Diagnostic Accuracy of Controlled Attenuation Parameter for Detecting Hepatic Steatosis in Patients with Chronic Liver Disease. *GE Portuguese Journal of Gastroenterology*. 24, 4 (2017), 161–168. DOI:<https://doi.org/10.1159/000453364>.
- [7] Armstrong, M.J. et al. 2016. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): A multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. *The Lancet*. (2016). DOI:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)00803-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)00803-X).
- [8] Ascaso, J.F., Pardo, S., Real, J.T., Lorente, R.I., Priego, A. and Carmena, R. 2003. Diagnosing Insulin Resistance by Simple Quantitative Methods in Subjects with Normal Glucose Metabolism. *Diabetes Care*. (2003). DOI:<https://doi.org/10.2337/diacare.26.12.3320>.
- [9] Aso, Y., Kato, K., Sakurai, S., Kishi, H., Shimizu, M., Jojima, T., Iijima, T., Maejima, Y., Shimomura, K. and Usui, I. 2019. Impact of dapagliflozin, an SGLT2 inhibitor, on serum levels of soluble dipeptidyl peptidase-4 in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Clinical Practice*. (2019).

- DOI:<https://doi.org/10.1111/ijcp.13335>.
- [10] Bonner, C. et al. 2015. Inhibition of the glucose transporter SGLT2 with dapagliflozin in pancreatic alpha cells triggers glucagon secretion. *Nature Medicine*. (2015). DOI:<https://doi.org/10.1038/nm.3828>.
- [11] Boursier, J., Zarski, J.P., de Ledinghen, V., Rousselet, M.C., Sturm, N., Lebaill, B., Fouchard-Hubert, I., Gallois, Y., Oberti, F., Bertrais, S. and Calès, P. 2013. Determination of reliability criteria for liver stiffness evaluation by transient elastography. *Hepatology*. (2013). DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.25993>.
- [12] Bruschi, F.V., Tardelli, M., Claudel, T. and Trauner, M. 2017. PNPLA3 expression and its impact on the liver: current perspectives. *Hepatic Medicine: Evidence and Research*. (2017). DOI:<https://doi.org/10.2147/hmer.s125718>.
- [13] Büttner, R. and Bollheimer, L.C. 2012. Neue entwicklungen in der therapie des diabetes mellitus typ 2 mit GLP-1-agonisten. *Arzneimitteltherapie*.
- [14] Castera, L., Yuen Chan, H.L., Arrese, M., Afdhal, N., Bedossa, P., Friedrich-Rust, M., Han, K.H. and Pinzani, M. 2015. EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *Journal of Hepatology*. 63, 1 (2015), 237–264. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.006>.
- [15] Chalasani, N., Younossi, Z., Lavine, J.E., Diehl, A.M., Brunt, E.M., Cusi, K., Charlton, M. and Sanyal, A.J. 2012. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology*. (2012). DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.25762>.
- [16] Charlton, M., Sanyal, A.J., Cusi, K., Lavine, J.E., Brunt, E.M., Harrison, S.A., Younossi, Z., Rinella, M. and Chalasani, N. 2017. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 67, 1 (2017), 328–357. DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.29367>.
- [17] Charlton, M.R., Burns, J.M., Pedersen, R.A., Watt, K.D., Heimbach, J.K. and Dierkhising, R.A. 2011. Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*. (2011). DOI:<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.061>.
- [18] Chen, J., Talwalkar, J.A., Yin, M., Glaser, K.J., Sanderson, S.O. and Ehman, R.L. 2011. Early Detection of Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease by Using MR Elastography. *Radiology*. (2011).

DOI:<https://doi.org/10.1148/radiol.11101942>.

- [19] Chon, Y.E., Jung, K.S., Kim, S.U., Park, J.Y., Park, Y.N., Kim, D.Y., Ahn, S.H., Chon, C.Y., Lee, H.W., Park, Y. and Han, K.H. 2014. Controlled attenuation parameter (CAP) for detection of hepatic steatosis in patients with chronic liver diseases: A prospective study of a native Korean population. *Liver International*. (2014). DOI:<https://doi.org/10.1111/liv.12282>.
- [20] Cleeman, J.I., Smith, S.C., Alberti, K.G.M.M., Grundy, S.M., Eckel, R.H., Zimmet, P.Z., Loria, C.M., James, W.P.T., Fruchart, J.-C. and Donato, K.A. 2009. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*. 120, 16 (2009), 1640–1645. DOI:<https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.192644>.
- [21] Cusi, K., Sattar, N., García-Pérez, L.E., Pavo, I., Yu, M., Robertson, K.E., Karanikas, C.A. and Haupt, A. 2018. Dulaglutide decreases plasma aminotransferases in people with Type 2 diabetes in a pattern consistent with liver fat reduction: a post hoc analysis of the AWARD programme. *Diabetic Medicine*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1111/dme.13697>.
- [22] Cuthbertson, D.J., Irwin, A., Gardner, C.J., Daousi, C., Purewal, T., Furlong, N., Goenka, N., Thomas, E.L., Adams, V.L., Pushpakom, S.P., Pirmohamed, M. and Kemp, G.J. 2012. Improved Glycaemia Correlates with Liver Fat Reduction in Obese, Type 2 Diabetes, Patients Given Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Receptor Agonists. *PLoS ONE*. (2012). DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050117>.
- [23] Dhir, G. and Cusi, K. 2018. Glucagon like peptide-1 receptor agonists for the management of obesity and non-alcoholic fatty liver disease: A novel therapeutic option. *Journal of Investigative Medicine*.
- [24] Donath, M.Y. 2014. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: Time to start. *Nature Reviews Drug Discovery*.
- [25] Dowman, J.K., Tomlinson, J.W. and Newsome, P.N. 2011. Systematic review: The diagnosis and staging of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 33, 5 (2011), 525–540. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2010.04556.x>.
- [26] Doycheva, I., Cui, J., Nguyen, P., Costa, E.A., Hooker, J., Hofflich, H., Bettencourt, R., Brouha, S., Sirlin, C.B. and Loomba, R. 2016. Non-invasive screening of diabetics in primary care for NAFLD and advanced fibrosis by MRI and MRE. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. (2016). DOI:<https://doi.org/10.1111/apt.13405>.
- [27] Dybek, I., Bischof, G., Grothues, J., Reinhardt, S., Meyer, C., Hapke, U., John, U., Broocks, A., Hohagen, F. and Rumpf, H.-J. 2006. The reliability and validity of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) in a

- German general practice population sample. *Journal of studies on alcohol*. (2006).
- [28] Eguchi, Y. et al. 2015. Pilot study of liraglutide effects in non-alcoholic steatohepatitis and non-alcoholic fatty liver disease with glucose intolerance in Japanese patients (LEAN-J). *Hepatology Research*. (2015). DOI:<https://doi.org/10.1111/hepr.12351>.
- [29] Fang, Y.L., Chen, H., Wang, C.L. and Liang, L. 2018. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease in children and adolescence: From “two hit theory” to “multiple hit model.” *World Journal of Gastroenterology*.
- [30] Finck, B.N. 2018. Targeting metabolism, insulin resistance, and diabetes to treat nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes*.
- [31] Foster, K.J., Dewbury, K.C., Griffith, A.H. and Wright, R. 1980. The accuracy of ultrasound in the detection of fatty infiltration of the liver. *British Journal of Radiology*. (1980). DOI:<https://doi.org/10.1259/0007-1285-53-629-440>.
- [32] Ganzetti, G. 2016. Psoriasis, non-alcoholic fatty liver disease, and cardiovascular disease: Three different diseases on a unique background. *World Journal of Cardiology*. (2016). DOI:<https://doi.org/10.4330/wjc.v8.i2.120>.
- [33] Gastaldelli, A. and Marchesini, G. 2016. Time for Glucagon like peptide-1 receptor agonists treatment for patients with NAFLD? *Journal of Hepatology*.
- [34] Ghorpade, D.S., Ozcan, L., Zheng, Z., Nicoloso, S.M., Shen, Y., Chen, E., Blüher, M., Czech, M.P. and Tabas, I. 2018. Hepatocyte-secreted DPP4 in obesity promotes adipose inflammation and insulin resistance. *Nature*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1038/nature26138>.
- [35] Ghoshal, K. 2015. Adiponectin: Probe of the molecular paradigm associating diabetes and obesity. *World Journal of Diabetes*. 6, 1 (2015), 151. DOI:<https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i1.151>.
- [36] Glass, L.M., Dickson, R.C., Anderson, J.C., Suriawinata, A.A., Putra, J., Berk, B.S. and Toor, A. 2015. Total Body Weight Loss of  $\geq 10\%$  Is Associated with Improved Hepatic Fibrosis in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis. *Digestive Diseases and Sciences*. (2015). DOI:<https://doi.org/10.1007/s10620-014-3380-3>.
- [37] Goffrier, B., Schulz, M. and Bätzing-Feigenbaum, J. 2017. Administrative Prävalenzen und Inzidenzen des Diabetes mellitus von 2009 bis 2015. *Versorgungsatlas-Bericht Nr. 17/03. 2017, Zentralinstitut für die kassenärztliche Versorgung in Deutschland (Zi)*. 17 (2017), 1–35. DOI:<https://doi.org/10.20364/VA-17.03>.
- [38] Hannah, W.N. and Harrison, S.A. 2016. Lifestyle and Dietary

Interventions in the Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease.  
*Digestive Diseases and Sciences.*

- [39] Hashida, R., Kawaguchi, T., Bekki, M., Omoto, M., Matsuse, H., Nago, T., Takano, Y., Ueno, T., Koga, H., George, J., Shiba, N. and Torimura, T. 2017. Aerobic vs. resistance exercise in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review. *Journal of Hepatology.* (2017). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.08.023>.
- [40] Hayashizaki-Someya, Y., Kurosaki, E., Takasu, T., Mitori, H., Yamazaki, S., Koide, K. and Takakura, S. 2015. Ipragliflozin, an SGLT2 inhibitor, exhibits a prophylactic effect on hepatic steatosis and fibrosis induced by choline-deficient l-amino acid-defined diet in rats. *European Journal of Pharmacology.* (2015). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.02.009>.
- [41] Heidemann, C., Du, Y. and Scheidt-Nave, C. 2012. *Wie hoch ist die Zahl der Erwachsenen mit Diabetes in Deutschland?*
- [42] Hodgson, R.J., John, B., Abbasi, T., Hodgson, R.C., Waller, S., Thom, B. and Newcombe, R.G. 2003. Fast screening for alcohol misuse. *Addictive Behaviors.* (2003). DOI:[https://doi.org/10.1016/S0306-4603\(02\)00246-0](https://doi.org/10.1016/S0306-4603(02)00246-0).
- [43] Holman, R.R. et al. 2017. Effects of Once-Weekly Exenatide on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine.* (2017). DOI:<https://doi.org/10.1002/pdi.2140>.
- [44] Ichikawa, K., Yamada, H., Nakano, A., Koketsu, Y., Kimata, K., Takeda, A., Irahara, A., Senda, E., Fujimori, T., Sumida, Y. and Takata, E. 2017. The Improvement of the Hepatic Histological Findings in a Patient with Non-alcoholic Steatohepatitis with Type 2 Diabetes after the Administration of the Sodium-glucose Cotransporter 2 Inhibitor Ipragliflozin. *Internal Medicine.* 56, 20 (2017), 2739–2744. DOI:<https://doi.org/10.2169/internalmedicine.8754-16>.
- [45] Itani, T. and Ishihara, T. 2018. Efficacy of canagliflozin against nonalcoholic fatty liver disease: a prospective cohort study. *Obesity Science & Practice.* 4, 5 (2018), 477–482. DOI:<https://doi.org/10.1002/osp4.294>.
- [46] Kamarajah, S.K., Chan, W.K., Nik Mustapha, N.R. and Mahadeva, S. 2018. Repeated liver stiffness measurement compared with paired liver biopsy in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology International.* (2018). DOI:<https://doi.org/10.1007/s12072-018-9843-4>.
- [47] Karlas, T. et al. 2017. Individual patient data meta-analysis of controlled attenuation parameter (CAP) technology for assessing steatosis. *Journal of Hepatology.* 66, 5 (2017), 1022–1030. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.12.022>.
- [48] Karlas, T. et al. 2014. Non-invasive assessment of hepatic steatosis in patients with NAFLD using controlled attenuation parameter and 1H-MR

- spectroscopy. *PLoS ONE*. (2014).  
DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091987>.
- [49] Karuranga, S., Cho, N.H., Ohlrogge, A.W., Shaw, J.E., da Rocha Fernandes, J.D., Huang, Y. and Malanda, B. 2018. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 138, (2018), 271–281.  
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>.
- [50] Kato, E.T. et al. 2019. Effect of Dapagliflozin on Heart Failure and Mortality in Type 2 Diabetes Mellitus. *Circulation*. (2019).  
DOI:<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.040130>.
- [51] Khoo, J., Hsiang, J.C., Taneja, R., Koo, S.H., Soon, G.H., Kam, C.J., Law, N.M. and Ang, T.L. 2019. Randomized trial comparing effects of weight loss by liraglutide with lifestyle modification in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver International*. (2019).  
DOI:<https://doi.org/10.1111/liv.14065>.
- [52] Kleiner, D.E., Brunt, E.M., Van Natta, M., Behling, C., Contos, M.J., Cummings, O.W., Ferrell, L.D., Liu, Y.C., Torbenson, M.S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A.J. and Sanyal, A.J. 2005. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. (2005). DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.20701>.
- [53] Koehler, E.M., Plompen, E.P.C., Schouten, J.N.L., Hansen, B.E., Darwish Murad, S., Taimr, P., Leebeek, F.W.G., Hofman, A., Stricker, B.H., Castera, L. and Janssen, H.L.A. 2016. Presence of diabetes mellitus and steatosis is associated with liver stiffness in a general population: The Rotterdam study. *Hepatology*. (2016).  
DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.27981>.
- [54] Komiya, C., Tsuchiya, K., Shiba, K., Miyachi, Y., Furuke, S., Shimazu, N., Yamaguchi, S., Kanno, K. and Ogawa, Y. 2016. Ipragliflozin improves hepatic steatosis in obese mice and liver dysfunction in type 2 diabetic patients irrespective of body weight reduction. *PLoS ONE*. (2016).  
DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151511>.
- [55] Krawczyk, M., Grünhage, F., Zimmer, V. and Lammert, F. 2011. Variant adiponutrin (PNPLA3) represents a common fibrosis risk gene: Non-invasive elastography-based study in chronic liver disease. *Journal of Hepatology*. (2011). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.10.042>.
- [56] Kuchay, M.S., Krishan, S., Mishra, S.K., Farooqui, K.J., Singh, M.K., Wasir, J.S., Bansal, B., Kaur, P., Jevalikar, G., Gill, H.K., Choudhary, N.S. and Mithal, A. 2018. Effect of empagliflozin on liver fat in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic fatty liver disease: A randomized controlled trial (E-LIFT Trial). *Diabetes Care*. 41, 8 (2018), 1801–1808.  
DOI:<https://doi.org/10.2337/dc18-0165>.

- [57] Kumari, M. et al. 2012. Adiponutrin functions as a nutritionally regulated lysophosphatidic acid acyltransferase. *Cell Metabolism*. (2012). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.008>.
- [58] Kyle, U.G., Bosaeus, I., De Lorenzo, A.D., Deurenberg, P., Elia, M., Gómez, J.M., Heitmann, B.L., Kent-Smith, L., Melchior, J.C., Pirlich, M., Scharfetter, H., Schols, A.M.W.J. and Pichard, C. 2004. Bioelectrical impedance analysis - Part II: Utilization in clinical practice. *Clinical Nutrition*. (2004). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.09.012>.
- [59] Lai, L.L., Vethakkan, S.R., Nik Mustapha, N.R., Mahadeva, S. and Chan, W.K. 2019. Empagliflozin for the Treatment of Nonalcoholic Steatohepatitis in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Digestive Diseases and Sciences*.
- [60] De Lédinghen, V., Vergniol, J., Capdepon, M., Chermak, F., Hiriart, J.B., Cassinotto, C., Merrouche, W., Foucher, J. and Brigitte, L.B. 2014. Controlled attenuation parameter (CAP) for the diagnosis of steatosis: A prospective study of 5323 examinations. *Journal of Hepatology*. 60, 5 (2014), 1026–1031. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.12.018>.
- [61] de Lédinghen, V., Vergniol, J., Foucher, J., Merrouche, W. and le Bail, B. 2012. Non-invasive diagnosis of liver steatosis using controlled attenuation parameter (CAP) and transient elastography. *Liver International*. (2012). DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2012.02820.x>.
- [62] Leite, N.C., Villela-Nogueira, C.A., Cardoso, C.R.L. and Salles, G.F. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease and diabetes: From physiopathological interplay to diagnosis and treatment. *World Journal of Gastroenterology*. 20, 26 (2014), 8377–8392. DOI:<https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i26.8377>.
- [63] Leite, N.C., Villela-Nogueira, C.A., Pannain, V.L.N., Bottino, A.C., Rezende, G.F.M., Cardoso, C.R.L. and Salles, G.F. 2011. Histopathological stages of nonalcoholic fatty liver disease in type 2 diabetes: Prevalences and correlated factors. *Liver International*. (2011). DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02482.x>.
- [64] Li, C.J., Zhang, J.Y., Yu, D.M. and Zhang, Q.M. 2014. Adding glimepiride to current insulin therapy increases high-molecular weight adiponectin levels to improve glycemic control in poorly controlled type 2 diabetes. *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 6, 1 (2014), 1–7. DOI:<https://doi.org/10.1186/1758-5996-6-41>.
- [65] Li, J.Z., Huang, Y., Karaman, R., Ivanova, P.T., Brown, H.A., Roddy, T., Castro-Perez, J., Cohen, J.C. and Hobbs, H.H. 2012. Chronic overexpression of PNPLA3 I148M in mouse liver causes hepatic steatosis. *Journal of Clinical Investigation*. (2012).

- DOI:<https://doi.org/10.1172/JCI65179>.
- [66] Limanond, P., Raman, S.S., Lassman, C., Sayre, J., Ghobrial, R.M., Busuttil, R.W., Saab, S. and Lu, D.S. 2004. Macrovesicular hepatic steatosis in living related liver donors: correlation between CT and histologic findings. *Radiology*. (2004).  
DOI:<https://doi.org/10.1148/radiol.2301021176>.
- [67] Liu, J., Wang, B., Xing, J., Qiu, H., Zhu, Y., Yang, R. and Wei, C. 2019. Correlation Between Adiponectin Gene rs1501299 Polymorphism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease Susceptibility: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medical Science Monitor*. 25, (2019), 1078–1086.  
DOI:<https://doi.org/10.12659/msm.912737>.
- [68] Luukkonen, P.K. et al. 2019. Human PNPLA3-I148M variant increases hepatic retention of polyunsaturated fatty acids. *JCI Insight*. (2019).  
DOI:<https://doi.org/10.1172/jci.insight.127902>.
- [69] Marchesini, G., Day, C.P., Dufour, J.F., Canbay, A., Nobili, V., Ratziu, V., Tilg, H., Roden, M., Gastaldelli, A., Yki-Jarvinen, H., Schick, F., Vettor, R., Fruhbeck, G. and Mathus-Vliegen, L. 2016. EASL-EASD-EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. (2016).  
DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>.
- [70] Margini, C. and Dufour, J.F. 2016. The story of HCC in NAFLD: From epidemiology, across pathogenesis, to prevention and treatment. *Liver International*.
- [71] Marjot, T., Green, C.J., Charlton, C.A., Cornfield, T., Hazlehurst, J., Moolla, A., White, S., Francis, J., Neubauer, S., Cobbold, J.F.L., Hodson, L. and Tomlinson, J.W. 2019. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibition does not reduce hepatic steatosis in overweight, insulin-resistant patients without type 2 diabetes. *JGH Open*. (2019).  
DOI:<https://doi.org/10.1002/jgh3.12274>.
- [72] Marso, S.P. et al. 2016. Liraglutide and Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes HHS Public Access. *N Engl J Med*. (2016).  
DOI:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1603827>.
- [73] Masarone, M., Rosato, V., Aglitti, A., Bucci, T., Caruso, R., Salvatore, T., Sasso, F.C., Tripodi, M.F. and Persico, M. 2017. Liver biopsy in type 2 diabetes mellitus: Steatohepatitis represents the sole feature of liver damage. *PLoS ONE*. 12, 6 (2017), 1–10.  
DOI:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178473>.
- [74] Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F. and Turner, R.C. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. (1985).

DOI:<https://doi.org/10.1007/BF00280883>.

- [75] Miyake, T. et al. 2018. Ipragliflozin ameliorates liver damage in non-alcoholic fatty liver disease. *Open Medicine (Poland)*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1515/med-2018-0059>.
- [76] Monami, M., Nreu, B., Scatena, A., Cresci, B., Andreozzi, F., Sesti, G. and Mannucci, E. 2017. Safety issues with glucagon-like peptide-1 receptor agonists (pancreatitis, pancreatic cancer and cholelithiasis): Data from randomized controlled trials. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. (2017). DOI:<https://doi.org/10.1111/dom.12926>.
- [77] Nathan, D.M., Turgeon, H. and Regan, S. 2007. Relationship between glycated haemoglobin levels and mean glucose levels over time. *Diabetologia*. (2007). DOI:<https://doi.org/10.1007/s00125-007-0803-0>.
- [78] Neuman, M.G., Cohen, L.B. and Nanau, R.M. 2014. Biomarkers in nonalcoholic fatty liver disease. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*.
- [79] Ohki, T., Isogawa, A., Toda, N. and Tagawa, K. 2016. Effectiveness of Ipragliflozin, a Sodium-Glucose Co-transporter 2 Inhibitor, as a Second-line Treatment for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease Patients with Type 2 Diabetes Mellitus Who Do Not Respond to Incretin-Based Therapies Including Glucagon-like Pep. *Clinical Drug Investigation*. (2016). DOI:<https://doi.org/10.1007/s40261-016-0383-1>.
- [80] Okamoto, A., Yokokawa, H., Sanada, H. and Naito, T. 2016. Changes in Levels of Biomarkers Associated with Adipocyte Function and Insulin and Glucagon Kinetics During Treatment with Dapagliflozin Among Obese Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Drugs in R and D*. (2016). DOI:<https://doi.org/10.1007/s40268-016-0137-9>.
- [81] Parikh, S., Wilding, J., Jabbour, S. and Hardy, E. 2015. Dapagliflozin in type 2 diabetes: Effectiveness across the spectrum of disease and over time. *International Journal of Clinical Practice*. 69, 2 (2015), 186–198. DOI:<https://doi.org/10.1111/ijcp.12531>.
- [82] Park, S.K., Seo, M.H., Shin, H.C. and Ryoo, J.H. 2013. Clinical availability of nonalcoholic fatty liver disease as an early predictor of type 2 diabetes mellitus in korean men: 5-year prospective cohort study. *Hepatology*. (2013). DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.26183>.
- [83] Perreault, L. 2017. EMPA-REG OUTCOME: The Endocrinologist's Point of View. *American Journal of Cardiology*. 120, 1 (2017), S48–S52. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2017.05.010>.
- [84] Petit, J.M., Cercueil, J.P., Loffroy, R., Denimal, D., Bouillet, B., Fourmont, C., Chevallier, O., Duvillard, L. and Vergès, B. 2017. Effect of liraglutide therapy on liver fat content in patients with inadequately controlled type 2 diabetes: The Lira-NAFLD study. *Journal of Clinical*

*Endocrinology and Metabolism.*

- [85] Porepa, L., Ray, J.G., Sanchez-Romeu, P. and Booth, G.L. 2010. Newly diagnosed diabetes mellitus as a risk factor for serious liver disease. *Cmaj*. 182, 11 (2010), 526–531. DOI:<https://doi.org/10.1503/cmaj.092144>.
- [86] Portillo-Sanchez, P., Bril, F., Maximos, M., Lomonaco, R., Biernacki, D., Orsak, B., Subbarayan, S., Webb, A., Hecht, J. and Cusi, K. 2014. WITHDRAWN: High Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus and Normal Plasma Aminotransferase Levels (article published in final form as 10.1210/jc.2015-1966). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. (2014), jc.2014-2739. DOI:<https://doi.org/10.1210/jc.2014-2739>.
- [87] Prashanth, M., Ganesh, H.K., Vimal, M. V., John, M., Bandgar, T., Joshi, S.R., Shah, S.R., Rathi, P.M., Joshi, A.S., Thakkar, H., Menon, P.S. and Shah, N.S. 2009. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Association of Physicians of India*. (2009).
- [88] Prussick, R.B. and Miele, L. 2018. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with psoriasis: a consequence of systemic inflammatory burden? *British Journal of Dermatology*.
- [89] Rastogi, A. and Bhansali, A. 2017. SGLT2 Inhibitors Through the Windows of EMPA-REG and CANVAS Trials: A Review. *Diabetes Therapy*.
- [90] Riddle, M.C. et al. 2018. 2018-ADA-Standards-of-Medical Care in Diabetes. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*. (2018).
- [91] Romeo, S., Kozlitina, J., Xing, C., Pertsemlidis, A., Cox, D., Pennacchio, L.A., Boerwinkle, E., Cohen, J.C. and Hobbs, H.H. 2008. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nature Genetics*. (2008). DOI:<https://doi.org/10.1038/ng.257>.
- [92] Roulot, D., Costes, J.L., Buyck, J.F., Warzocha, U., Gambier, N., Czernichow, S., Le Clesiau, H. and Beaugrand, M. 2011. Transient elastography as a screening tool for liver fibrosis and cirrhosis in a community-based population aged over 45 years. *Gut*. (2011). DOI:<https://doi.org/10.1136/gut.2010.221382>.
- [93] Safari, Z. and Gérard, P. 2019. The links between the gut microbiome and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Cellular and Molecular Life Sciences*. (2019). DOI:<https://doi.org/10.1007/s00018-019-03011-w>.
- [94] Sasso, M., Miette, V., Sandrin, L. and Beaugrand, M. 2012. The controlled attenuation parameter (CAP): A novel tool for the non-invasive evaluation of steatosis using Fibroscan®. *Clinics and Research in Hepatology and*

*Gastroenterology.*

- [95] Sasso, M., Tengher-Barna, I., Ziol, M., Miette, V., Fournier, C., Sandrin, L., Poupon, R., Cardoso, A.C., Marcellin, P., Douvin, C., De Ledinghen, V., Trinchet, J.C. and Beaugrand, M. 2012. Novel controlled attenuation parameter for noninvasive assessment of steatosis using Fibroscan®: Validation in chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis*. (2012). DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01534.x>.
- [96] Seko, Y. et al. 2017. Effect of 12-week dulaglutide therapy in Japanese patients with biopsy-proven non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus. *Hepatology Research*. (2017). DOI:<https://doi.org/10.1111/hepr.12837>.
- [97] Seko, Y. et al. 2017. Effect of sodium glucose cotransporter 2 inhibitor on liver function tests in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease and type 2 diabetes mellitus. *Hepatology Research*. (2017). DOI:<https://doi.org/10.1111/hepr.12834>.
- [98] Shimizu, M., Suzuki, K., Kato, K., Jojima, T., Iijima, T., Murohisa, T., Iijima, M., Takekawa, H., Usui, I., Hiraishi, H. and Aso, Y. 2019. Evaluation of the effects of dapagliflozin, a sodium-glucose co-transporter-2 inhibitor, on hepatic steatosis and fibrosis using transient elastography in patients with type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 21, 2 (2019), 285–292. DOI:<https://doi.org/10.1111/dom.13520>.
- [99] Da Silva, H.E., Teterina, A., Comelli, E.M., Taibi, A., Arendt, B.M., Fischer, S.E., Lou, W. and Allard, J.P. 2018. Nonalcoholic fatty liver disease is associated with dysbiosis independent of body mass index and insulin resistance. *Scientific Reports*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1038/s41598-018-19753-9>.
- [100] Singal, A.G., Manjunath, H., Yopp, A.C., Beg, M.S., Marrero, J.A., Gopal, P. and Waljee, A.K. 2014. The effect of PNPLA3 on fibrosis progression and development of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *American Journal of Gastroenterology*. (2014). DOI:<https://doi.org/10.1038/ajg.2013.476>.
- [101] Smits, M.M., Tonneijck, L., Muskiet, M.H.A., Kramer, M.H.H., Pouwels, P.J.W., Pieters-van den Bos, I.C., Hoekstra, T., Diamant, M., van Raalte, D.H. and Cahen, D.L. 2016. Twelve week liraglutide or sitagliptin does not affect hepatic fat in type 2 diabetes: a randomised placebo-controlled trial. *Diabetologia*. (2016). DOI:<https://doi.org/10.1007/s00125-016-4100-7>.
- [102] Stoker, J., van Gulik, T.M., Nederveen, A.J., Smits, N.J., van Werven, J.R., ten Kate, F.J. and Marsman, H.A. 2010. Assessment of Hepatic Steatosis in Patients Undergoing Liver Resection: Comparison of US, CT,

- T1-weighted Dual-Echo MR Imaging, and Point-resolved 1 H MR Spectroscopy . *Radiology*. (2010). DOI:<https://doi.org/10.1148/radiol.10091790>.
- [103] Stokes, C.S., Lammert, F. and Krawczyk, M. 2017. Short-term Dietary Interventions for the Management of Nonalcoholic Fatty Liver. *Current Medicinal Chemistry*. 24, 999 (2017), 1–1. DOI:<https://doi.org/10.2174/0929867324666170508144409>.
- [104] Svegliati-Baroni, G. et al. 2011. Glucagon-like peptide-1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high-fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver International*. (2011). DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02462.x>.
- [105] Tahara, A., Kurosaki, E., Yokono, M., Yamajuku, D., Kihara, R., Hayashizaki, Y., Takasu, T., Imamura, M., Li, Q., Tomiyama, H., Kobayashi, Y., Noda, A., Sasamata, M. and Shibasaki, M. 2013. Effects of SGLT2 selective inhibitor ipragliflozin on hyperglycemia, hyperlipidemia, hepatic steatosis, oxidative stress, inflammation, and obesity in type 2 diabetic mice. *European Journal of Pharmacology*. (2013). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.05.014>.
- [106] Takamura, T., Misu, H., Ota, T. and Kaneko, S. 2012. <Takamura T et al. 2012, Fatty liver as a consequence and cause of insulin resistance.pdf>. 59, 9 (2012), 745–763.
- [107] Tang, A., Rabasa-Lhoret, R., Castel, H., Wartelle-Bladou, C., Gilbert, G., Massicotte-Tisluck, K., Chartrand, G., Olivié, D., Julien, A.S., De Guise, J., Soulez, G. and Chiasson, J.L. 2015. Effects of insulin glargine and liraglutide therapy on liver fat as measured by magnetic resonance in patients with type 2 diabetes: A randomized trial. *Diabetes Care*. (2015). DOI:<https://doi.org/10.2337/dc14-2548>.
- [108] Targher, G. and Byrne, C.D. 2013. Nonalcoholic fatty liver disease: A novel cardiometabolic risk factor for type 2 diabetes and its complications. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 98, 2 (2013), 483–495. DOI:<https://doi.org/10.1210/jc.2012-3093>.
- [109] Targher, G., Lonardo, A. and Byrne, C. 2018. Nonalcoholic fatty liver disease and chronic vascular complications of diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cgh.2016.08.028>.
- [110] Thiele, M., Rausch, V., Fluhr, G., Kjærgaard, M., Piecha, F., Mueller, J., Straub, B.K., Lupşor-Platon, M., De-Ledinghen, V., Seitz, H.K., Detlefsen, S., Madsen, B., Krag, A. and Mueller, S. 2018. Controlled attenuation parameter and alcoholic hepatic steatosis: Diagnostic accuracy and role of alcohol detoxification. *Journal of Hepatology*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.12.029>.

- [111] Tian, F., Zheng, Z., Zhang, D., He, S. and Shen, J. 2018. Efficacy of liraglutide in treating type 2 diabetes mellitus complicated with non-alcoholic fatty liver disease. *Bioscience reports*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1042/BSR20181304>.
- [112] Tobita, H., Sato, S., Miyake, T., Ishihara, S. and Kinoshita, Y. 2017. Effects of Dapagliflozin on Body Composition and Liver Tests in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis Associated with Type 2 Diabetes Mellitus: A Prospective, Open-label, Uncontrolled Study. *Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental*. 87, (2017), 13–19. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2017.07.002>.
- [113] Tremaroli, V. and Bäckhed, F. 2012. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*.
- [114] Trépo, E., Romeo, S., Zucman-Rossi, J. and Nahon, P. 2016. PNPLA3 gene in liver diseases. *Journal of Hepatology*. 65, 2 (2016), 399–412. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.03.011>.
- [115] Turnbaugh, P.J., Bäckhed, F., Fulton, L. and Gordon, J.I. 2008. Diet-Induced Obesity Is Linked to Marked but Reversible Alterations in the Mouse Distal Gut Microbiome. *Cell Host and Microbe*. (2008). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.02.015>.
- [116] Windler, E. and Nitschmann, S. 2015. Neue Therapieoption bei Diabetes mellitus Typ 2 New therapy option for type 2 diabetes mellitus. *Der Internist*. (2015). DOI:<https://doi.org/10.1007/s00108-015-3848-z>.
- [117] Wong, V.W.S., Vergniol, J., Wong, G.L.H., Foucher, J., Chan, H.L.Y., Le Bail, B., Choi, P.C.L., Kowo, M., Chan, A.W.H., Merrouche, W., Sung, J.J.Y. and De Ledinghen, V. 2010. Diagnosis of fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. (2010). DOI:<https://doi.org/10.1002/hep.23312>.
- [118] Yilmaz, Y., Ergelen, R., Akin, H. and Imeryuz, N. 2013. Noninvasive detection of hepatic steatosis in patients without ultrasonographic evidence of fatty liver using the controlled attenuation parameter evaluated with transient elastography. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. (2013). DOI:<https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e3283623a16>.
- [119] Yokono, M., Takasu, T., Hayashizaki, Y., Mitsuoka, K., Kihara, R., Muramatsu, Y., Miyoshi, S., Tahara, A., Kurosaki, E., Li, Q., Tomiyama, H., Sasamata, M., Shibasaki, M. and Uchiyama, Y. 2014. SGLT2 selective inhibitor ipragliflozin reduces body fat mass by increasing fatty acid oxidation in high-fat diet-induced obese rats. *European Journal of Pharmacology*. (2014). DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.01.040>.
- [120] Yoo, H.J. and Choi, K.M. 2015. Hepatokines as a link between obesity and cardiovascular diseases. *Diabetes and Metabolism Journal*. 39, 1 (2015),

- 10–15. DOI:<https://doi.org/10.4093/dmj.2015.39.1.10>.
- [121] Younossi, Z., Anstee, Q.M., Marietti, M., Hardy, T., Henry, L., Eslam, M., George, J. and Bugianesi, E. 2018. Global burden of NAFLD and NASH: Trends, predictions, risk factors and prevention. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*.
- [122] Yue, W., Li, Y., Geng, J., Wang, P. and Zhang, L. 2019. Aspartate aminotransferase to platelet ratio can reduce the need for transient elastography in Chinese patients with chronic hepatitis B. *Medicine*. 98, 49 (2019), e18038. DOI:<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018038>.
- [123] Zelber-Sagi, S., Salomone, F. and Mlynarsky, L. 2017. The Mediterranean dietary pattern as the diet of choice for non-alcoholic fatty liver disease: Evidence and plausible mechanisms. *Liver International*. 37, 7 (2017), 936–949. DOI:<https://doi.org/10.1111/liv.13435>.
- [124] Zhao, Z.-H., Lai, J.K.-L., Qiao, L. and Fan, J.-G. 2019. Role of gut microbial metabolites in nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Digestive Diseases*. (2019). DOI:<https://doi.org/10.1111/1751-2980.12709>.
- [125] Zheng, S.L., Roddick, A.J., Aghar-Jaffar, R., Shun-Shin, M.J., Francis, D., Oliver, N. and Meeran, K. 2018. Association between use of sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors, glucagon-like peptide 1 agonists, and dipeptidyl peptidase 4 inhibitors with all-cause mortality in patients with type 2 diabetes a systematic review and meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. (2018). DOI:<https://doi.org/10.1001/jama.2018.3024>.

## 7. Veröffentlichung

Wesentliche Teile dieser Arbeit wurden als Originalarbeit veröffentlicht und als Poster vorgestellt.

### **Publikation:**

*Noninvasive monitoring of liver fat during treatment with GLP-1 analogues and SGLT-2 inhibitors in a real-world setting*

Vasiliki Mittag-Roussou, Stefan Wagenpfeil, Frank Lammert, Caroline S. Stokes  
J Endocrinology, Diabetes & Metabolism (2020)

DOI:<https://doi.org/10.1002/edm2.131>.

**Poster:** 33. Jahrestagung der Gastroenterologischen Arbeitsgemeinschaft Rheinland-Pfalz / Saarland (GARPS) vom 16. - 17. November 2018 in Bad Kreuznach

*Changes to controlled attenuation parameter during treatment with GLP-1 Agonists and SGLT-2 Inhibitors in patients with diabetes and non-alcoholic fatty liver disease*

Vasiliki Mittag-Roussou, Stefan Wagenpfeil, Frank Lammert, Caroline S. Stokes

## 8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich bei der Durchführung meiner Doktorarbeit unterstützt haben und mir meine Promotion ermöglicht haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Professor Dr. Frank Lammert, für seine Motivierung, die Überlassung des Themas und seine Unterstützung bei der Verwirklichung der Dissertation.

Ganz ausdrücklich möchte ich mich bei Frau PD Dr. Caroline Stokes bedanken. Ihre vorzügliche Kompetenz, ihre essentielle Betreuung sowie ihre kontinuierliche Präsenz haben meine Promotion ermöglicht.

An Herrn Stefan Wagenpfeil richte ich meinen speziellen Dank, denn seine hervorragenden Kenntnisse im Bereich der statistischen Analyse waren eine besonders wichtige Unterstützung beim Zustandekommen dieser Arbeit.

Bei meinen Eltern bedanke ich mich ganz herzlich, da sie mir das systematische und gezielte Arbeiten beigebracht und das Medizinstudium ermöglicht haben, ebenso ein spezieller Dank an meine Schwester, die immer an meine Qualifikationen und meine Stärke geglaubt hat.

Einen besonderen Dank richte ich an meinen Mann Marc, der mit seiner Motivationshilfe, seinen Ratschlägen und seiner aktiven Präsenz meine Promotion unterstützt hat.

Ein Dank gebührt meinen Kollegen und Mitarbeitern Frau Anita Arslanow, Frau Stephanie Jürgen, Frau Susanne Gatter, Frau Pervin Jung, Frau Stefanie Schneider, Frau Ute Kernade, Frau Birgit Scheidweiler, Frau Andreani Koutsou und Frau Ifigeneia Papapostoli für ihre Unterstützung bei der Rekrutierung der Patienten sowie bei der Durchführung der Studie.

Bedanken möchte ich mich ebenso bei allen Patienten, die initial in die Studie eingeschlossen wurden und teilgenommen haben, und ganz besonders bei den 39 Patienten, die mich mit Geduld und Zuverlässigkeit bis zum Studienende begleitet haben.

## **9. Lebenslauf**

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





# 10. Anhänge

## 10.1 Diabetes mellitus

### 10.1.1 Klassifikation des Diabetes mellitus

[5]

- Diabetes mellitus Typ 1: immunologische Erkrankung, die zu einem absoluten Insulinmangel führt.
  - ➔ Sonderform: LADA (latent autoimmune diabetes in adults)
  
- Diabetes mellitus Typ 2: ursächlich liegen diesem vier Faktoren in unterschiedlichen Ausprägungsgraden zugrunde: eine Insulinresistenz, ein sekretorischer Defekt sowohl der  $\beta$ -Zellen als auch der  $\alpha$ -Zellen, eine fortschreitende Apoptose der  $\beta$ -Zellen und eine verminderte Inkretinsekretion
  
- Gestationsdiabetes
  
- Andere Diabetes-Typen
  - Genetische Defekte der  $\beta$ -Zellfunktion (MODY Typen)
  - Genetische Defekte der Insulinwirkung
  - Erkrankungen des exokrinen Pankreas: Pankreatitis, zystische Fibrose, Hämochromatose)
  - Endokrinopathien (Cushing Syndrom, Akromegalie, Phäochromozytom)
  - Medikamentös-chemisch induziert (Glucocorticoide, Schilddrüsenhormone, Betaadrenergika, Thiazide, hormonelle Kontrazeptiva)
  - Infektionen, z.B. CMV-Infektion, kongenitale Rötelninfektion
  - Genetische Syndrome, die gelegentlich mit Diabetes vergesellschaftet sind, z.B. Down-, Klinefelter-, Turner- Syndrom

### 10.1.2 Alternativ empfohlene Klassifikation des Diabetes mellitus

[2]

- a. **SAID (severe autoimmune diabetes):** Merkmale dieser Gruppe sind ein junges Alter bei der Erstdiagnose, hohes HbA1c, positive GADA (Antikörper gegen Glutaminsäure-Decarboxylase) und niedriges c-Peptid, was für eine verminderte Insulinproduktion spricht. Diese Charakteristika entsprechen grundsätzlich einem Typ 1 Diabetes mellitus oder LADA.
- b. **SIDD (severe insulin-deficient diabetes):** diese Gruppe ist durch einen hohen HbA1c, verminderte Insulinsekretion und mäßige Insulinresistenz charakterisiert. Diabetiker mit diesen Eigenschaften präsentieren das höchste Risiko für Retinopathie.
- c. **SIRD (severe insulin-resistant diabetes):** Adipositas und schwere Insulinresistenz sind die Charakteristika dieser Patientengruppe. Diabetiker mit diesen Eigenschaften präsentieren das höchste Risiko zur Entwicklung einer Nephropathie.
- d. **MOD (mild obesity-related diabetes):** diese Gruppe besteht grundsätzlich aus adipösen und relativ jungen Patienten.
- e. **MARD (mild age-related diabetes):** diese Gruppe besteht grundsätzlich aus älteren Patienten.

### 10.2 Diagnosekriterien des Diabetes mellitus

[5]

- Nüchtern-Plasmaglukose  $\geq 126$  mg/dl ( $\geq 7,0$  mmol/l)
- HbA1c  $\geq 6,5\%$  ( $\geq 48$  mmol/mol)
- Gelegenheits-Plasmaglukosewert  $\geq 200$  mg/dl ( $\geq 11,1$  mmol/l) und Symptome des Diabetes
- OGGT-2h-Wert im venösen Plasma  $\geq 200$  mg/dl ( $\geq 11,1$  mmol/l)

### 10.3 Neue zugelassene Antidiabetika

#### 10.3.1 GLP-1 Agonisten

Die GLP-1 (glucagon-like-peptid-1) Rezeptor-Agonisten werden als medikamentöse antidiabetische Therapie für adipöse Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 angewendet. Sie wirken durch unterschiedliche Mechanismen, z.B. Stimulation der Glukose-abhängigen Insulinsekretion, Hemmung der Glukagonsekretion, Verzögerung der Magenentleerung und Förderung einer Gewichtsabnahme durch zentrale Hemmung des Appetits. Die häufigsten Nebenwirkungen betreffen das gastrointestinale System (Übelkeit, selten Erbrechen, Diarrhoe,

Obstipation). Es besteht ein geringes Hypoglykämierisiko von lediglich 1-4%; dieses scheint i.R. einer kombinierten Therapie mit Sulfonylharnstoffen oder Insulintherapie ansteigend zu sein [13]. Das früher gemeldete erhöhte Risiko zur Entwicklung von Pankreatitis und Pankreaskarzinom unter GLP-1 RA lässt sich durch aktuellere Studien nicht bestätigen [76].

Nach der ELIXA-Studie (Lixisenatid), die keinen kardiovaskulären Nutzen ergab, zeigten zwei randomisierte und plazebo-kontrollierte Studien positive kardiovaskuläre Ergebnisse (LEADER-Liraglutide, SUSTAIN-6-Semaglutid) [125]. Die LEADER-Studie war die erste, die im Jahre 2016 eindeutig positive kardiovaskuläre Endpunkte nachweisen konnte; hier wurde eine signifikante Senkung der kardiovaskulären Mortalität um 22%, der Gesamtmortalität um 15% und der Nierenerkrankung um 22% nachgewiesen [72]. Eine weitere Studie (EXSEL), die den kardiovaskulären Nutzen des GLP-1 Analogon Exenatide untersuchte, ergab keine positiven kardiovaskulären Ergebnisse [43]. Ob diese Variabilität an Ergebnissen unterschiedliche pharmakologische Wirkungen der verschiedenen GLP-1 Analoga reflektiert, ist unklar [125].

### **10.3.2 SGLT-2 Inhibitoren**

Die SGLT-2 (Sodium-Glukose-Cotransporter 2) Inhibitoren werden als medikamentöse antidiabetische Therapie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 eingesetzt. In einer großen Studie von Parikh et al. [81] wurde gezeigt, dass Dapagliflozin eine ähnliche HbA1c- Reduktion wie Metformin als Monotherapie erreichen kann. SGLT-2 Inhibitoren wirken insulinunabhängig, indem sie die renale Rückresorption der Glukose im proximalen Tubulus des Nephrons hemmen und dadurch die Glukose-Ausscheidung fördern. Konsekutiv wird die Plasmaglukosekonzentration gesenkt. Die Glukosurie führt zu einer Gewichtsabnahme durch Kalorienverlust, ferner zu einer Reduktion des Blutdrucks, am ehesten durch eine begleitende osmotische Diurese. Es wurde bereits bewiesen, dass die renale Rückresorption mit SGLT-2 Inhibitoren von Blutzuckerwerten im Plasma sowie von der glomerulären Filtrationsrate abhängt, sodass ein erhöhtes Hypoglykämierisiko unter SGLT2-Inhibitoren nicht besteht. Die häufigsten Nebenwirkungen / Komplikationen sind urogenitale Infektionen, die mit der erhöhten Glukose-Ausscheidung assoziiert sind [81]. Hypoglykämische Ereignisse können dann auftreten, wenn eine SGLT-2 Inhibitoren-Therapie mit Insulin oder Sulfonylharnstoffen kombiniert wird. Zu den seltenen Nebenwirkungen gehören die Dehydrierung, bzw. Volumenmangel. Im Februar 2016 warnte die Europäische Arzneimittel-Agentur vor der Gefahr einer atypischen Ketoazidose unter SGLT-2 Inhibitoren. Eine mögliche Erklärung dafür könnte die Reduktion der Insulinproduktion sein, die durch die gesenkten Glukosewerte im

Plasma erfolgt und zu einer gesteigerten Lipolyse und konsekutiver Ketogenese führt. Besonders gefährdet sind Patienten mit bereits vorhandenem Insulinmangel. Als prädisponierende Faktoren gelten längere Nüchternphasen, Alkoholkonsum, Infekte und intensive körperliche Aktivität. Dementsprechend sollten solche Situationen berücksichtigt werden und ggfs. sollte die Therapie pausiert werden [1].

Zum ersten Mal im Jahre 2015 ergaben sich in der EMPA-REG-Studie positive kardiovaskuläre Endpunkte eines glukosesenkenden Mittels (Empagliflozin). Hier wurde eine signifikante Senkung der kardiovaskulären Todesfälle um 38%, der Zahl der Hospitalisierungen wegen chronischer Herzinsuffizienz um 35% und der Gesamtsterblichkeit um 32% gezeigt. Die Zahl der akuten Ereignisse (Myokardinfarkte und Schlaganfälle) wurde nicht signifikant gesenkt [83]. Eine weitere Studie (CANVAS-Canagliflozin) konnte ebenfalls positive kardiovaskuläre Effekte nachweisen, wobei parallel dazu eine zunehmende Inzidenz der Amputation der unteren Extremitäten beobachtet wurde [89]. Zuletzt ergab die DECLARE-TIMI 58-Studie für Dapagliflozin eine signifikante Reduktion an Hospitalisationen wegen Herzinsuffizienz [50].

***„Noninvasive monitoring of liver fat during treatment with GLP- 1 analogues and SGLT-2 inhibitors in a real-world setting“***

Vasiliki Mittag-Roussou, Stefan Wagenpfeil, Frank Lammert, Caroline S. Stokes

DOI: 10.1002/edm2.131