

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Zentrum für Anästhesiologie und Intensivmedizin
Klinik für Intensivmedizin

Prof. Dr. Stefan Kluge

Titel der Dissertation

Assoziation zirkulierender Metabolite mit dem Diabetesrisiko in der europäischen
Population: Eine Substudie innerhalb des EU-Konsortiums BiomarCaRE
[Biomarkers for Cardiovascular Risk Assessment in Europe]

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Stephanie Gorschegg
Aus Klagenfurt am Wörthersee

Hamburg 2022

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 15.06.2023**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Frau PD Dr. Petra Algenstaedt

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Herr Prof. Dr. Dr. Mahir Karakas

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Physiologische Grundlagen des Diabetes mellitus.....	5
1.2 Einteilung.....	5
1.3 Epidemiologie.....	6
1.3.1 Prävalenz.....	6
1.3.2 Mortalität.....	7
1.4 Volkswirtschaftliche Bedeutung.....	7
1.5 Diagnostik.....	8
1.6 Diabetes mellitus Typ 1.....	9
1.6.1 Ätiopathogenese.....	9
1.7 Diabetes mellitus Typ 2.....	10
1.7.1 Ätiopathogenese.....	10
1.8 Metabolomik.....	12
1.8.1 Koexistente Metabolomanalysen bei DMT2.....	13
1.9 Arbeitshypothese und Fragestellung.....	14
2. Material und Methoden	15
2.1 Studienkohorten und Definition der Endpunkte.....	15
2.2 Messung der Metaboliten und Datenverarbeitung.....	16
2.3 Statistische Analyse.....	16
3. Ergebnisse	19
3.1 Basischarakteristika.....	19
3.2 Metabolitassoziationen für zukünftigen DMT2.....	20
3.3 Geschlechtsspezifische Metabolitassoziationen für zukünftigen DMT2.....	22
3.4 Metabolite versus klassische Risikofaktoren.....	23

3.5 Überlebenskurven.....	24
3.6 C-Indizes.....	26
4. Diskussion.....	28
4.1 Hexosen.....	28
4.2 Aminosäuren.....	29
4.2.1 Glycin.....	32
4.3 Lipide.....	33
4.4 Acylcarnitin.....	36
4.5 Schlussfolgerung.....	38
5. Zusammenfassung.....	39
6. English summary.....	40
7. Anhang.....	41
7.1 Anhang 1.....	41
7.2 Anhang 2.....	43
8. Abbildungsverzeichnis.....	48
9. Literaturverzeichnis.....	50
10. Danksagung.....	63
11. Lebenslauf.....	64
12. Eidesstattliche Versicherung.....	65

1. Einleitung

1.1 Physiologische Grundlagen des Diabetes mellitus

Unter dem Begriff Diabetes mellitus subsumiert sich eine Gruppe metabolischer Störungen, welche sich phänotypisch als chronische Hyperglykämie darstellt (Suttorp et al. 2020). Multiple pathogene Prozesse sind an der Genese der unterschiedlichen Formen des Diabetes mellitus beteiligt (Suttorp et al. 2020). Ätiologisch handelt es sich um ein diffiziles Zusammenwirken von genetischer Prädisposition und Umwelteinflüssen (Harreiter und Roden 2019). Die Ursache der Hyperglykämie ist primär auf einen gestörten Insulinmetabolismus zurückzuführen, welcher sich als Insulinmangel, absolut oder relativ, im Zuge einer gestörten Insulinsekretion, als Insulinresistenz, an einer oder multiplen Stellen der komplexen Hormonwirkungswege oder auch als eine Kombination von beiden Mechanismen präsentiert (Arastéh et al. 2018).

Die Primärkomplikationen von akut erhöhtem Blutzuckerspiegel äußern sich symptomatisch klassischerweise mit Polyurie, Polydypsie, allgemeiner Schwäche, Somnolenz, Gewichtsverlust, Sehschwäche oder den konsekutiv lebensbedrohlichen Verläufen einer Ketoazidose oder eines hyperosmolaren Komas (Baenkler et al. 2021; Harreiter und Roden 2019). Diese Anomalie führt dromologisch zu umfangreichen Sekundärkomplikationen verschiedener Gewebe und Organsysteme (Baenkler et al. 2021). Auf mikrovaskulärer Ebene resultieren Nephropathien mit potentiell Nierenversagen, Polyneuropathien und Retinopathien mit möglichem Visusverlust, wohingegen makrovaskuläre Komplikationen assoziiert sind mit atherosklerotischen kardiovaskulären Erkrankungen (American Diabetes Association 2015; Baenkler et al. 2021). Zu Letzteren lassen sich die koronare Herzkrankheit, zerebrovaskuläre Erkrankungen oder periphere arterielle Erkrankungen zuordnen (Arastéh et al. 2018), welche den Hauptgrund für Morbidität und Mortalität dieser Gruppe darstellen (American Diabetes Association 2020 und 2015; Arastéh et al. 2018).

1.2 Einteilung

Aktuell erfolgt die Klassifizierung des Diabetes mellitus auf Basis von ätiopathogenetischen Kriterien der ADA (American Diabetes Association) 1997, welche 2000 von der DDG (Deutschen Diabetes Gesellschaft) bestätigt und übernommen wurde (Kerner et al. 2004). Von den vier gelisteten Diabetestypen stellen der Diabetes Typ 1 und 2 die beiden Hauptgruppen dar (Baenkler et al. 2021). Die dritte Gruppe subsumiert verschiedene spezifische Diabetestypen mit ihren unterschiedlichen zugrunde liegenden Ursachen (Baenkler et al. 2021). Darunter fallen genetische Defekte der Betazellfunktion bzw. der Insulinwirkung, aber auch Endokrinopathien, welche infolge eines Cushing-Syndromes,

einer Akromegalie oder einer Hyperthyreose eine sekundär diabetische Stoffwechsellage hervorrufen (Nauck et al. 2020; Baenkler et al. 2021). Ferner können Erkrankungen des exokrinen Pankreas, genetische Syndrome (Down-Syndrom, Turner-Syndrom), Infektionen oder Medikamente, wie beispielsweise Glukokortikoide oder Neuroleptika, manifestationsfördernd für einen Diabetes mellitus sein (Nauck et al. 2020; Baenkler et al. 2021). Der Gestationsdiabetes als letzte eigene Diabetesform manifestiert sich bei ca. 3 % der Schwangeren als hormonell induzierte periphere Insulinresistenz zumeist temporär und postnatal reversibel (Arastéh et al. 2018).

Neben der aktuellen Klassifizierung des Diabetes mellitus ist zum weiteren Verständnis auch der Prädiabetes relevant. Definiert als intermediäre Hyperglykämie beschreibt dieser erhöhte Nüchtern glukosewerte, welche sich aber noch unter dem für Diabetes definierten Grenzwert befinden (Tabák et al. 2012). Jährlich konvertieren 5-10 % der Prädiabetiker:innen zu einem manifesten Diabetes mellitus Typ 2 (Tabák et al. 2012). Unabhängig von der Etablierung eines DMT2 (Diabetes mellitus Typ 2) wurde für Prädiabetes ein kausaler Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen und Gesamtmortalität nachgewiesen und gilt somit als signifikanter Risikofaktor für Herz-Kreislaufkrankungen (Zand et al. 2018; Tabák et al. 2012).

Die Diabetes mellitus Typen 1 und 2 werden im Folgenden näher beschrieben, die übrigen Diabetestypen werden hier nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

1.3 Epidemiologie

1.3.1 Prävalenz

In Europa belief sich die Diabetesprävalenz 2019 in der Altersspanne von 20 bis 79 Jahren, prozentual auf ungefähr 9 % (IDF Diabetes Atlas 2019). Dies entsprach 59,3 Millionen erwachsenen europäischen Bürgern, davon schätzungsweise 41 % undiagnostiziert (IDF Diabetes Atlas 2019). Nach Hochrechnungen der IDF (International Diabetes Federation) wird für Europa bis 2030 eine Prävalenz von 66 Millionen Erwachsenen erwartet. Im Vergleich zum „Bundes-Gesundheitssurvey 1998“ (BGS98) lässt sich bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt in Deutschland bereits eine Prävalenzzunahme von 38 % feststellen (Heidemann und Scheidt-Nave 2017). Die Anzahl der Diabetiker:innen hierzulande lag, Stand 2017, basierend auf Datengrundlagen der Untersuchungssurveys des Robert Koch-Instituts und bundesweiten Krankenkassendaten zwischen 7,2 % und 9,9 %, Tendenz steigend (Heidemann und Scheidt-Nave 2017). Somit liegt Deutschland,

den jüngsten Daten zufolge, im europäischen Vergleich hinter der Türkei (11,1 %) auf Platz 2 (IDF Diabetes Atlas 2019).

Die steigende Prävalenz zeichnet sich nicht nur in Industrienationen, sondern neuerdings zunehmend auch in Entwicklungsländern ab und führt zu prekären Entwicklungen in der öffentlichen Gesundheit (IDF Diabetes Atlas 2019). So rechnet man in Afrika bis 2045 mit der höchsten globalen Prävalenzzunahme von 143 %, gefolgt von +55 % in Süd- und Zentralamerika (IDF Diabetes Atlas 2019). Dabei nimmt der Diabetes Typ 2 den wichtigsten Stellenwert ein, da seine Prävalenz aufgrund zunehmender körperlicher Inaktivität, Fettleibigkeit sowie der demographischen Alterung als Folge eines modernen Lebensstils in allen Altersgruppen flagrant zunimmt (Baenkler et al. 2021; Wu et al. 2014; Heidemann et al. 2013).

1.3.2 Mortalität

2019 entfielen global 11,3 % aller Todesfälle auf Diabetes mellitus bzw. dessen Komplikationen, wovon sich ungefähr die Hälfte der Todesfälle vor dem 60. Lebensjahr ereigneten (IDF Diabetes Atlas 2019). Die multiplen akuten oder chronischen Komplikationen sind oftmals auf einen schlecht oder gar nicht eingestellten Diabetes zurückzuführen, weshalb die Mortalität in Entwicklungsländern im Vergleich zu Industrienationen fast doppelt so hoch ist (IDF Diabetes Atlas 2019). 16,2 % aller Todesfälle im Nahen Osten und Nordafrika ließen sich 2019 auf Diabetes mellitus zurückführen (IDF Diabetes Atlas 2019). Begründen lässt sich dies unter anderem durch hohe Dunkelziffern in wirtschaftlich weniger entwickelten Ländern (IDF Diabetes Atlas 2019). Global gesehen lebte 2019 jede:r zweite Diabetiker:in unwissend mit dieser Erkrankung (IDF Diabetes Atlas 2019). Die höchsten Dunkelziffern wurden 2019 für Afrika mit ca. 60 % angenommen (IDF Diabetes Atlas 2019).

1.4 Volkswirtschaftliche Bedeutung

Neben verfrühter Mortalität und einer signifikant verringerten Lebensqualität der Betroffenen spielt Diabetes mellitus auch eine große volkswirtschaftliche Rolle (IDF Diabetes Atlas 2019). Die Belastung des Gesundheitswesens hinsichtlich der Therapie diabetischer Komplikationen ist unmittelbar und langfristig immens und präsentiert sich aktuell als eine außerordentliche gesundheitspolitische Herausforderung (Rosella et al. 2016; Alva et al. 2015). Bezogen auf die globalen Gesundheitskosten gibt es unterschiedliche auf Schätzungen basierende Daten für die direkten und/oder indirekten diabetesbedingten Gesundheitsausgaben. Die direkten durch Diabetes mellitus und

dessen Folgeerkrankungen verursachten Kosten umfassen die Bereitstellung von Gesundheitsdiensten (präventiv, kurativ, rehabilitativ), wohingegen sich die indirekten Ausgaben auf die verlorenen Erwerbstätigkeitsjahre aufgrund von Arbeitsunfähigkeit oder Sterblichkeit beziehen (Deutscher Bundestag 2019).

Dem IDF zufolge wurde für das Jahr 2019 eine globale Summe von 640 Milliarden Euro als totale Gesamtkosten angenommen. Dabei verzeichneten die Vereinigten Staaten von Amerika den größten Kostenanteil mit 250 Milliarden Euro ca. 39 % der globalen Gesamtausgaben. Auf Europa entfielen 2019 etwa 21 % der weltweiten Diabetesausgaben mit rund 135 Milliarden Euro (IDF Diabetes Atlas 2019). Innereuropäisch existieren wiederum enorme Unterschiede: während sich die Kosten 2019 für die Schweiz auf etwa 10.000 € pro Person pro Jahr beliefen, betragen sie in der Ukraine nur 290 € pro Einwohner (IDF Diabetes Atlas 2019).

1.5 Diagnostik

Meist kann die Diagnose Diabetes mellitus schon mittels der Anamnese vermutet werden (Arastéh et al. 2018). Eine ausführliche Befragung mit besonderem Blick auf die klassischen Symptome wie Polyurie, Polydypsie, Gewichtsverlust und Schwächegefühl, aber auch prädisponierende Faktoren wie eine positive Familienanamnese, können auf die Verdachtsdiagnose Diabetes hinweisen, wobei die definitive Diagnose jedoch nur mittels Labordiagnostik erfolgen kann (Arastéh et al. 2018).

In der klinischen Routine erfolgt die Befundung klassischerweise durch die Bestimmung des Nüchternblutglukosespiegels, dem oralem Glukosetoleranztest (oGTT) und der Messung des Hämoglobin A_{1c} (HbA_{1c}) (Arastéh et al. 2018; Harreiter und Roden 2019). Letzterer liefert Informationen über den durchschnittlichen Blutzuckergehalt der vergangenen 2-3 Monate (American Diabetes Association 2015) aufgrund der glukoseabhängigen nichtenzymatischen Glykierung dieser Hämoglobinvariante (Arastéh et al. 2018). Bedeutsame Vorteile dieses Biomarkers sind die erhöhte Benutzerfreundlichkeit aufgrund nicht erforderlicher Nahrungskarenz, die Minimierung täglicher Varianzen und eine verbesserte präanalytische Stabilität (Harreiter und Roden 2019; Chatterjee et al. 2017). Ab dem Grenzwert von $\geq 6,5$ % kann die Diagnose eines Diabetes mellitus gestellt werden (Harreiter und Roden 2019).

Die Bestimmung des Nüchternblutzuckers erfolgt nach ≥ 8 -stündiger Nahrungskarenz im venösen Plasma, wobei die Messung an mindestens einem weiteren Tag wiederholt wird und jeweils Werte von ≥ 126 mg/dl anzeigen muss (Harreiter und Roden 2019, American Diabetes Association 2015).

Der oGTT wird nicht routinemäßig angewendet. Er ist bei Risikopatient:innen beispielsweise bei Adipositas oder PCO-Syndrom und abnormen Nüchternblutglukosewerten

indiziert (Arastéh et al. 2018). Nach dreitägiger kohlehydratreicher Ernährung ($\geq 150\text{g/Tag}$) werden die Blutzuckerwerte der:des Patient:in nüchtern sowie 60 Minuten bzw. 120 Minuten nach Aufnahme einer 75 g Glukoselösung bestimmt (Baenkler et al. 2021; Harreiter und Roden 2019).

Grundsätzlich ist eine Testwiederholung aufgrund von analytischer Variabilität, Verfälschung durch Krankheit oder Medikamenteneinnahme, immer vor dem Stellen der definitiven Diagnose angezeigt, ausgenommen der:die Patient:in weist typische Anzeichen einer Hyperglykämie oder einer hyperglykämischen Krise auf (American Diabetes Association 2015).

1.6 Diabetes mellitus Typ 1

Dieser Typ repräsentiert lediglich 5-10 % aller Diabetesfälle, obgleich mit steigender Prävalenz (Norris et al. 2020). Eine Manifestation von Diabetes mellitus Typ 1 (im Folgenden: DMT1) ist grundsätzlich in jedem Alter möglich, der Erkrankungsgipfel liegt jedoch im Jugendalter (American Diabetes Association 2020; Baenkler et al. 2021). Die EU verzeichnete nach aktuellen Angaben (2019) im internationalen Vergleich die höchsten Prävalenz- und Inzidenzraten von Typ-1-Diabetiker:innen in einer Altersspanne von 0-20 Jahren mit 296.500 Fällen und geschätzten 31.100 Neuerkrankungen pro Jahr (IDF Diabetes Atlas 2019). Schweden, Finnland und Norwegen haben weltweit mit die höchsten Inzidenzen für Diabetes Typ 1 in der genannten Altersgruppe (IDF Diabetes Atlas 2019). Die Ursachen hierfür sind jedoch nicht bekannt (Patterson et al. 2019; IDF Diabetes Atlas 2019).

1.6.1 Ätiopathogenese

Hereditäre Komponenten, Virusinfektionen und Umwelteinflüsse werden als Ursachen eines DMT1 genannt (Maahs et al. 2010; Arastéh et al. 2018). Nachkommen einer Typ-1-Diabetikerin verfügen über ein 2-3%iges, Nachkommen eines Typ-1-Diabetikers über ein 7%iges Erkrankungsrisiko (Hämäläinen und Knip 2002). Trotz der seltenen familiären Korrelation wird DMT1 stark genetisch mitbestimmt (Maahs et al. 2010; Arastéh et al. 2018). Unter den multipel beteiligten Genen sind Veränderungen der humanen Leukozytenantigen-Region (HLA) auf Chromosom 6 die wichtigsten Vertreter (Maahs et al. 2010; Arastéh et al. 2018; Norris et al. 2020). Primär werden jedoch Umweltfaktoren für die Ätiologie von DMT1 verantwortlich gemacht, da sich die Konkordanz von eineiigen Zwillingen auf lediglich 30-50 % beläuft (Arastéh et al. 2018), weshalb exogene Faktoren für das Initiieren eines Autoimmunprozesses additiv beteiligt sein müssen (Goodwin 2019; Arastéh et al. 2018).

Die steigende Prävalenz lässt sich, entsprechend genetisch stabiler Populationsstudien, auf nicht hereditäre Faktoren zurückführen (Maahs et al. 2010; Ziegler et al. 2011). Unter den Umweltfaktoren werden vor allem Nahrungseinflüsse beleuchtet und die Rolle von Weizengluten, Kuhmilch oder Vitamin D in der Entwicklung von DMT1 diskutiert (Maahs et al. 2010; Virtanen und Knip 2003; Norris et al. 2020).

Dem Diabetes mellitus Typ 1 liegt in der Regel ein absoluter Insulinmangel zugrunde, bedingt durch eine Zerstörung der pankreatischen Betazellen (Atkinson et al. 2014; Suttorp et al. 2020; Bundesgesundheitsministerium 2021). Der immun-vermittelte DMT1, auf welchen die Mehrheit der Fälle zurückzuführen ist, wird induziert durch eine zellulär bedingte Autoimmundestruktion der insulinsezernierenden β -Zellen, dessen zirkulierende Autoantikörper unter anderem für die Diagnostik Gebrauch finden (Arastéh et al. 2018). Immunologische Komponenten, Umwelteinflüsse sowie multiple genetische Prädispositionen führen zum Krankheitsbild des immun-vermittelten DMT1 (Arastéh et al. 2018; Maahs et al. 2010; Acharjee et al. 2013).

Eine kleine Minderheit an Patient:innen weist keine der oben beschriebenen autoimmunologischen Marker auf, wodurch vermutlich eine andere Ätiologie als eine Autoimmuninsulinitis ursächlich ist (Arastéh et al. 2018). Durch idiopathische Dysfunktion der Betazellen dominiert auch bei diesen Patient:innen eine permanente Insulinopenie mit episodischen Ketoazidosen (Maahs et al. 2010; Arastéh et al. 2018).

1.7 Diabetes mellitus Typ 2

Etwa 90-95 % aller Diabetesfälle lassen sich auf den Diabetes mellitus Typ 2 (im Folgenden: DMT2) zurückführen (Baenkler et al. 2021; Wu et al. 2014; Bundesgesundheitsministerium 2021). Obwohl der demografische Wandel einen Risikofaktor für DMT2 darstellt, verlagert sich der Zeitpunkt der Manifestation der Erkrankung alarmierenderweise zunehmend auch in das Kindes- und Jugendalter (Kwak und Kyong 2016; Chatterjee 2017; Heidemann et al. 2013).

1.7.1 Ätiopathogenese

Der Diabetes mellitus obliegt polygenetischer und multifaktorieller Genese (Arastéh et al. 2018; Temelkova-Kurktschiev und Stefanov 2012). Das Lebenszeitrisko eines Verwandten ersten Grades von T2-Diabetiker:innen liegt bei 40 %, sind beide Elternteile erkrankt liegt das Risiko einer Manifestation bei knapp 70 % (Wu et al. 2014). Mit mehr als 50 % Konkordanz eineiiger Zwillinge nimmt die genetische Prädisposition bei DMT2 einen

höheren Stellenwert ein, als es bei T1 (Typ-1) der Fall ist (Wu et al. 2014; Arastéh et al. 2018).

Neben multiplen exogenen Faktoren wie physischer Inaktivität, Rauchen, Alkoholkonsum, sowie einer ballaststoffarmen Ernährung mit hohem glykämischen Index konnte in zahlreichen Studien festgestellt werden, dass Adipositas, prädominant als abdominelle respektive viszerale Form, den Hauptmanifestationsgrund eines DMT2 darstellt (Arastéh et al. 2018; Wu et al. 2014; Cheng et al. 2021).

Eine permanent erhöhte Nahrungszufuhr sowie eine hereditär bedingte Insulinresistenz kann in einer reduzierten Insulinwirkung an den Zielorganen resultieren (Suttorp et al. 2020). Der konkrete Mechanismus dieser Insulinresistenz ist jedoch noch nicht vollständig geklärt (Suttorp et al. 2020; Fan et al. 2019). Verschiedene Stellen der involvierten molekularen Pfade werden untersucht. Diskutiert werden in diesem Zusammenhang unter anderem die Rolle des Retinol Binding Proteins 4 (Fan et al. 2019), Entzündungsmediatoren (Scheithauer et al. 2020), Insulinrezeptormutationen, Stress des endoplasmatischen Retikulums (Yaribeygi et al. 2019), freie Radikale sowie Dysfunktionen bei De-/Phosphorylierungen auf Postrezeptorebene (Suttorp et al. 2020). Der relative Insulinmangel wird initial durch eine gesteigerte Insulinproduktion der Betazellen zu kompensieren versucht, was jedoch im Verlauf bei einigen Patient:innen zu einer Betazelldestruktion führt (Suttorp et al. 2020). Begründet wird das Versagen der insulinsezernierenden Zellen unter anderem durch oxidativen Stress, induziert durch Hyperglykämie und Hyperlipidämie, sowie weiteren genetischen Komponenten (Gerber und Rutter 2017). Mit steigendem Verlust der Betazellfunktion reduziert sich auch die Betazellmasse um 30-65 %, mit der konsekutiven Manifestation postprandialer Hyperglykämie (Wang und Wang 2017; Inaishi und Saisho 2020). Im Verlauf wird die Gluconeogenese sowie die Lipidsynthese der Leber stimuliert, woraufhin sich die klassisch pathologischen Nüchternblutzuckerwerte konstatieren lassen (Suttorp et al. 2020).

Da sowohl die Lebensqualität als auch die Lebenszeit der Diabetiker:innen eingeschränkt respektive reduziert ist und das Gesundheitssystem aufgrund der multiplen bereits oben erwähnten Sekundärkomplikationen dieser Erkrankung und der stetig wachsenden Prävalenz von DMT2 eklatant strapaziert wird, kommt der Prävention und Prädiktion dieser Entität eine besondere Bedeutung zu (Suttorp et al. 2020; IDF Diabetes Atlas 2019). Der von uns genutzte Ansatz zur Prädiktion eines Diabetes mellitus Typ 2 basiert auf Metabolom-Analysen.

1.8 Metabolomik

Die Metabolomik befasst sich mit der quantitativen Messung sowie der Identifizierung und Charakterisierung aller Metabolite eines Systems (Psychogios et al. 2011). Definiert wird das Metabolom als Produkt aller niedermolekularen Metabolite (<1500 Da), welche am Stoffwechsel einer Zelle, eines Organs oder eines Organismus als Substrat, Produkt oder Zwischenprodukt beteiligt sind (Psychogios et al. 2011; Roberts et al. 2012; Balcerczyk et al. 2020). Die analysierten Bioproben können Körperflüssigkeiten (Blutserum/plasma, Speichel, Urin), Gewebe, Gase aber auch Lebensmittel darstellen (Kulling o. D). Es besteht eine aktive Modulation dieser Metabolite sowie eine enge Interaktion mit anderen molekularbiologischen Teilbereichen, wie der Genexpression (Transkriptomik, Epigenomik), der Proteintranslation (Proteomik) und des Genoms (Genomik) selbst (Hollywood et al. 2006). Als unmittelbares Produkt von Transkripten und Proteinfunktionen können durch die Metabolitanalyse bereits subtilste Abnormitäten bzw. Dysbalancen des biologischen Status detektiert werden (Nagana Gowda und Raftery 2013). Aufgrund des aktiven Einflusses der Metabolite auf dieses empfindliche dynamische System bilden „Metabolomics“ mittlerweile ein flagrant zentrales Agens in der Identifizierung von Biomarkern in Bezug auf diverse pathophysiologische Prozesse (Rinschen et al. 2019).

Unterschieden werden zwei Methoden: die zielgerichtete Metabolomik (targeted metabolomic/approach), welche ausgewählte Metabolite und Verbindungen exakt nach ihrer absoluten Konzentration bestimmt (Wolohan et al. 2015), und die nicht zielgerichtete Metabolomik (non-targeted metabolomic/approach), als unvoreingenommene Metabolomanalyse mit der Erfassung und der relativen Quantifizierung aller messbaren Metabolite (Newgard 2017; Koureas et al. 2021). Folglich ist es mit letzterer Methode möglich, neue Metabolite bzw. Biomarker zu identifizieren (Newgard 2017).

Die Metabolomik hat insbesondere in den letzten zwei Dekaden massiv vom Fortschritt der analytischen Technologie profitiert, wenngleich dieser im Vergleich zu anderen Bereichen der Systembiologie eher junge Forschungsbereich deutlich schlechter erschlossen ist (Newgard 2017; Wolohan et al. 2015). Die „Human Metabolome Database“, erstmals erwähnt im Jahr 2007, welche heute die wohl umfangreichste Agglomeration von Daten über das menschliche Metabolom darstellt, konnte die Datenlage seit der ersten Veröffentlichung 2007 (HMDB 1.0) mit der Erfassung von 2180 Molekülen (Wishart et al. 2007) bis 2018 (HMDB 4.0) nahezu verdreifachen (Wishart et al. 2018) und umfasst in der aktuellsten Veröffentlichung (2022), der HMDB 5.0 bereits 217920 Metaboliteinträge (Wishart et al. 2022). Ungeachtet dessen repräsentieren diese Datenmengen aber immer noch bei Weitem keine Vollständigkeit (Gibbs 2020; Wishart et al. 2022).

1.8.1 Koexistente Metabolomanalysen bei DMT2

Bereits in früheren Studien konnte ein Zusammenhang von Metaboliten und DMT2 bzw. Prädiabetes festgestellt werden (Ma et al. 2018). Bezugnehmend auf eine Review aus dem Jahr 2019 von Anreth et al., welche 70 unabhängige Studien inkludierte, lies sich eine signifikante Assoziation zwischen erhöhten Plasmaspiegeln verzweigtkettiger Aminosäuren (in Abbildung 1 genannt „Branched-Chain Amino Acids“, kurz „BrAAs“) und Patient:innen mit DMT2, einer Insulinresistenz, gestörter Nüchternglukosespiegel und adipösen Patient:innen festmachen. Deduktiv wurden erhöhte Konzentrationen verzweigtkettiger Aminosäuren (Isoleucin, Leucin und Valin) als Prädiktoren für eine Insulinresistenz bei T2-Diabetiker:innen identifiziert (Anreth et al. 2019). Weitere signifikante metabolische Veränderungen bei Prädiabetiker:innen sind erhöhte Level aromatischer Aminosäuren (in Abbildung 1 genannt „Aromatic Amino Acids“, kurz „ArAAs“, genannt), insbesondere Phenylalanin und Tyrosin aber auch β -Hydroxybutyrat und Glutamat-zu-Glutamin-Verhältnisse (unten genannt „Glu/Gln“), wie Abbildung 1 zu entnehmen ist (Anreth et al. 2019). Andere Metaanalysen ließen auf eine Korrelation zwischen Prädiabetes und/oder Typ-2-Diabetes bei erhöhten Konzentrationen von Hexosezuckern (z. B. Glukose, Fruktose und Mannose) und Lipidkonzentrationen, insbesondere Phospholipide, Triglyceride, Sphingolipide und Glycerophospholipide im Blut schließen, wobei sich diese Aussage auf eine kleine Anzahl von Studien stützt mit partiell inkonsistenten, respektive kontradiktorischen Ergebnissen (Anreth et al. 2019; Guasch-Ferré et al. 2016; Ma et al. 2018; Merino et al. 2017; Gonzalez-Franquesa et al. 2016; Al-Sulaiti et al. 2019).

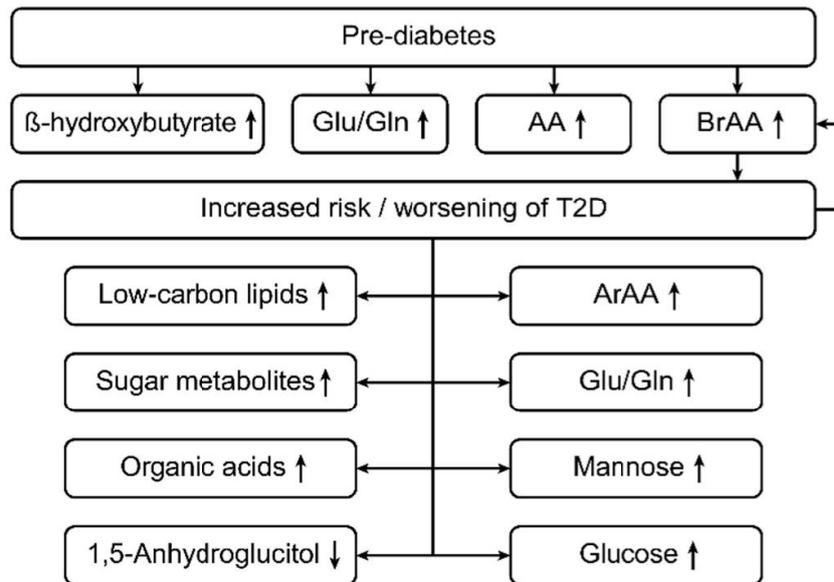


Abb. 1: Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes

(aus: Arneith, Borros, Rebekka Arneith, and Mohamed Shams. 2019. Figure 3 in "Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes." *International Journal of Molecular Sciences* 20(10):2467. doi: 10.3390/ijms20102467)

Angezeigt werden Quantitätsänderungen bestimmter Metabolite bei Patient:innen mit Diabetes mellitus Typ 2 und Prädiabetes. Bereits bei Prädiabetiker:innen konnten erhöhte Plasmakonzentrationen verzweigtkettiger Aminosäuren (BRAAs), aromatischer Aminosäuren (ArAAs), β -Hydroxybutyrat und erhöhte Glu/Gln-Verhältnisse festgestellt werden. Erhöhte Spiegel verzweigtkettiger Aminosäuren (BRAAs), kohlenstoffarmer Lipide, Zuckermetabolite, organischer Säuren, Mannose und Glukose, jedoch verringerte Werte von 1,5-Anhydroglucitol wurden mit einem erhöhten Diabetesrisiko sowieso mit einer Verschlechterung eines bestehenden DMT2 assoziiert (Arneith et al. 2019). Abkürzungen: Glu/Gln = Glutamat-zu-Glutamin-Verhältnis, AA = Amino Acids, BrAA = Branched-Chain Amino Acids, ArAA = Aromatic Amino Acids, T2D = Typ-2-Diabetes

1.9 Arbeitshypothese und Fragestellung

Im Hinblick auf die steigenden Prävalenzen von Adipositas, kardiovaskulären Erkrankungen und Diabetes, basierend auf metabolischen Dysregulationen, liegt in der Metabolit-Profilierung großes Potential hinsichtlich Prävention, Prädiktion sowie eines besseren Verständnisses für die Pathogenese (Newgard 2017; Ma et al. 2018).

Multiple Analysen konnten Korrelationen zwischen DMT2 und charakteristischen Metabolitmustern identifizieren, wobei die Ergebnisse oftmals uneinheitlich und die zugrunde liegenden Studien relativ klein sind.

Mittels einer zielgerichteten Metabolomik evaluieren wir den grundsätzlichen prädiktiven Wert bei DMT2. Durch die außergewöhnliche Größe und das Design unserer Studie soll diese im Bereich der prädikativen Metabolomikforschung zu Diabetes mellitus Typ 2 eine nahezu definitive Antwort liefern.

2. Material und Methoden

2.1 Studienkohorten und Definition der Endpunkte

Durchgeführt wurde unsere Studie im Rahmen des BiomarCaRE (**B**iomarker for **C**ardiovascular **R**isk Assessment across **E**urope)-Konsortiums als ein europäisches Verbundforschungsprojekt. BiomarCaRE ist ein EU-finanziertes Konsortium mit eminenten Ressourcen aus großen prospektiven europäischen Kohorten, initiiert mit dem Bestreben, die Früherkennung kardiometabolischer Erkrankungen mithilfe von neuen und bestehenden Biomarkern zu verbessern (Zeller et al. 2014).

Alle Teilnehmer:innen wurden entsprechend der regulatorischen Vorgaben der Einzelstudien aufgeklärt und willigten ihrer Teilnahme schriftlich ein. Darüber hinaus erfüllten alle teilnehmenden Kohorten die Deklaration von Helsinki und das Studienprotokoll wurde von lokalen Ethikkommissionen sowie von allen partizipierenden Studienzentren genehmigt (Cavus et al. 2019). Die Harmonisierung der Basischarakteristika, Diabetesereignisse, Phänotypen und Follow-up-Informationen der großen multinationalen europäischen Kohorten erfolgte innerhalb der Monica Risk, Genetics, Archiving and Monograph (MORGAM)-Datenbank (Cavus et al. 2019).

In Anlehnung an den mit unserer Studie identischen methodischen Ablauf der Publikation von Cavus et al., ebenfalls durchgeführt durch das BiomarCaRE Konsortium, handelt es sich bei der aktuellen Analyse um eine prospektive epidemiologische Studie mit Biobanken unter Anwendung eines Fall-Kohorten-Designs (Cavus et al. 2019). Die ursprüngliche Kohorte, bestehend aus 70.000 Patient:innen, inkludierte nur Personen, welche eine negative Herzinfarkt-, Herzinsuffizienz-, Vorhofflimmern-, Diabetes-, KHK- oder Schlaganfallanamnese aufwiesen. Aus dieser ursprünglichen Kohorte wurde eine gewichtete Teilstichprobe (Subkohorte) erstellt, welche zusammen mit allen inzidenten Fällen außerhalb der Teilstichprobe, d.h. allen Individuen der ursprünglichen Kohorte, die im Verlauf des Follow-up einen Diabetes entwickelten, die Fallkohortenmenge bildeten (Cavus et al. 2019). Dieses Fall-Kohorten-Design hat den Vorteil, wirtschaftlich effizienter zu sein, ohne jedoch dabei die statistische Aussagekraft wesentlich zu schmälern (Kulathinal et al. 2007; Zeller et al. 2014).

Die repräsentative Subkohorte von 9847 Personen setzte sich wie folgt aus 5 multinationalen Kohorten zusammen: DanMONICA (Dänemark) mit 3296 Personen, FINRISK97 (Finnland) mit 1780 Personen, Moli-sani (Italien) mit 1354 Personen, MONICA/KORA (Deutschland) mit 1055 Personen und SHHEC (Schottland) mit 2362 Personen (Cavus et al. 2019).

Zum Biobanking sowie zur Bestimmung des prädiktiven Wertes der Metabolite bei Baseline, wurden 9847 Serumproben augenscheinlich gesunder Personen analysiert. Der Endpunkt eines inzidenten Diabetes mellitus wurde in der aktuellen Studie 1733-mal erreicht.

2.2 Messung der Metaboliten und Datenverarbeitung

Das entnommene Proband:innenvollblut wurde zentrifugiert und die Serumproben mittels AbsoluteIDQ p180 Kit (BIOCRATES Life Sciences AG) gemäß der Empfehlungen des Herstellers analysiert. Dieser ist ein vollautomatisierter Assay, welcher auf der Verwendung von Phenylisothiocyanat als Laufmittel zur Derivatisierung der gesuchten Metabolite basiert (Hampel et al. 2019). Mit dem AbsoluteIDQ p180 Kit kann eine quantitative und reproduzierbare Analyse von 184 Metaboliten aus 5 analytischen Gruppen (Aminosäuren/biogene Amine, Acylcarnitine, Glycerophospholipide, Sphingolipide und Zucker) erzielt werden (Hampel et al. 2019). Bei der hier angewendeten Analyse handelt es sich um semiselektive Metabolomik bzw. „targeted approach“. Somit existiert zwar eine Zielanalytensliste, welche aber relativ umfangreich gestaltet ist. Die Metabolitenanalyse basiert auf einer gleichzeitigen Quantifizierung und Charakterisierung durch Flüssigchromatographie (LC) und Fließinjektionsanalyse-Massenspektrometrie (FIA-MS) unter Verwendung eines TSQ Vantage (Thermo Fisher Scientific) gekoppelt mit einem UltiMate 3000 Pump/Autosampler (Thermo Fisher Scientific). Dabei wird die Eigenschaft des Flüssigchromatographen, analytische Stofftrennungen durchzuführen, mit der Möglichkeit der Detektion von Molekülmassen durch die Massenspektrometrie kombiniert (Cavus et al. 2019; Güssregen 2019).

2.3 Statistische Analyse

Die umfangreiche Statistik wurde zentral gerechnet und von den abteilungsinternen Statistikern des Universitären Herzzentrums (UHZ) Hamburg Eppendorf zur Verfügung gestellt. Die Quartilgrenzen kontinuierlicher Variablen wurden mit dem Median sowie dem 25. und 75. Perzentil beschrieben. Zur Vervollständigung fehlender multivarianter Daten wurden mehrere Imputationen unter der Verwendung von „Multivariate Imputations by Chained Equations“ (MICE) durch vollständig bedingte Spezifikation (fully conditional specification) durchgeführt (Van Buuren und Groothuis-Oudshoorn 2011). Insgesamt wurden 20 imputierte Datensätze mit jeweils separaten Imputationen für jedes Studienzentrum und Geschlecht erstellt. Neben der Anwendung einer logarithmischen Normalverteilung für die Metabolite wurde für alle anderen Variablen ein prädiktives Mittelwert-Matching verwendet (Cavus et al. 2019).

Der Ereignisindikator Diabetes und die Nelson-Aalen-Schätzung der kumulativen Überlebensfunktion, d.h. die Zeit bis zum Erreichen eines DMT2, wurden im Imputationsmodell berücksichtigt. Pearson- und Spearman-Korrelationskoeffizienten der log-transformierten Metabolite wurden sowohl untereinander als auch gegenüber bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren wie Untersuchungsalter, weiblich, systolischer Blutdruck, Gesamtcholesterin, HDL Cholesterin, BMI, Raucher-Status und antihypertensive Therapie zur Erhebung der Zusammenhänge erstellt. Unter alleiniger Verwendung der Subkohorte wurde der Kehrwert der Einschlusswahrscheinlichkeit in Bezug auf die Beobachtungen gewichtet (Cavus et al. 2019).

Mit jedem einzelnen der log-transformierten und nach Bonferroni-Korrektur signifikanten Metabolite wurde eine Cox-Regression durchgeführt und die Analyse für die Variablen BMI, systolischer Blutdruck, antihypertensive Medikation, Gesamtcholesterin, Raucher-Status, männliches Geschlecht, Zentrum und Untersuchungsalter adjustiert. Die hierfür angewandte Methodik der Cox-Regressionen ist ausführlich in Kulathinal et al. 2007 beschrieben. Bei den Cox-Regressionen wurden die Individuen mit inversen Subkohorten-Wahrscheinlichkeitsgewichten bewertet und robuste Standardfehler herangezogen (Kulathinal et al. 2007). Eine Assoziation wurde als signifikant eingestuft, wenn das Signifikanzniveau 0,05 oder weniger betrug. Unter Anwendung der Bonferroni-Korrektur zum Erhalt des adjustierten Signifikanzniveaus bei multiplen Testungen errechnete sich ein Schwellenwert für den P-Wert von $\alpha = 0.05/112 = 4.4642857 \times 10^{-4}$. Der Divisor ergibt sich aus der Anzahl der unabhängigen Testungen ($n = 112$), entsprechend der ursprünglich für SNPs in Gao et al. beschriebenen Methode (Gao et al. 2008). Die Bonferroni-Korrektur bezieht sich in dieser Publikation auf die Anzahl der effektiven Tests ($n = 112$), definiert als die Anzahl der Hauptkomponenten, welche 99,5 % der Variation der log-Metaboliten erklären. Unter Verwendung der Subkohorte und Gewichtung der Beobachtungen mit dem Kehrwert der Einschlusswahrscheinlichkeit wurde die Standardabweichung ermittelt, womit konsekutiv die Hazard Ratios pro Standardabweichung berechnet werden konnten. Durch Verrechnung der Metabolit-Geschlecht-Interaktion in das Cox-Modell konnten die geschlechtsspezifischen Hazard Ratios angenähert werden. So wurde im Gegensatz zu getrennten Regressionen für Männer und Frauen ein Einschluss aller Individuen generiert (Cavus et al. 2019).

Um die Überlebenskurven abzuschätzen, wurden Kaplan-Meier-Kurven mit erneuter Applikation des Alters als Zeitskala konstruiert. Das Fall-Kohorten-Design wurde mit den wie bereits oben erwähnten Methoden aus Kulathinal et al. berücksichtigt (Kulathinal et al. 2007). Durch Bildung von Gruppen auf Basis der Metabolitentertile wurde für jeden der 59

signifikanten Metabolite, nach Bonferroni-Korrektur für Mehrfachtestung, eine autonome Überlebenskurve erstellt. Anhand der Subkohorte wurden die Tertile generiert und die Auswertungen mit dem Kehrwert der Einschlusswahrscheinlichkeiten gewichtet (Cavus et al. 2019).

Zur Beurteilung der Diskuminierungskraft des Cox-Modells wurden die Metabolite mit C-Indizes bewertet. Es wurden die Wahrscheinlichkeiten für das Eintreten eines diabetischen Ereignisses innerhalb der nächsten 5, 10 und 20 Jahre für jede Kombination der Basischarakteristika verrechnet. Dies wurde geschätzt durch Überlagerung einer dem Alter angepassten Weibull-Kurve unter Einbeziehung des für das Cox-Modell spezifischen linearen Prädiktors. Die NRIs wurden für den Vergleich Basismodell zu Metabolitenformationen für das Follow-up von 5, 10 und 20 Jahren berechnet. Bei der Schätzung des prognostischen Wertes der Metabolite wurde eine 10-fache Kreuzvalidierung angewandt. Konfidenzintervalle und P-Werte wurden für die Differenzen der C-Indizes mit den in Antolini et al. aufgeführten Methoden kalkuliert (Cavus et al. 2019; Antolini et al. 2004).

3. Ergebnisse

3.1 Basischarakteristika

In die Analyse wurden final 9847 zu Studienbeginn nicht an DMT2 erkrankte Personen eingeschlossen. Darunter befanden sich 3989 Frauen und 5858 Männer. Das mediane Alter (Interquartilsbereich) betrug 55.2 ((47.7, 61.4) Frauen) bzw. 57.3 ((50.0, 62.1) Männer) Jahre. Die Risikofaktoren Rauchen und Hypertonie bestanden sehr häufig mit 30,7 % (3021 Individuen), respektive fast die Hälfte mit 48,3 % (4758 Individuen). Der BMI (kg/m²), das Gesamtcholesterin und die Triglyceride beliefen sich bei Baseline im Median auf 26,4 (kg/m²), 229 mg/dL bzw. 121 mg/dL. Im Verlauf der Studie wurde bei 17,6 % (1733 Teilnehmer:innen) ein DMT2 diagnostiziert, davon fast zu gleichen Teilen Frauen (18,3 %) wie Männer (17,2 %). In Personenjahren ergaben sich insgesamt 11,7 Diabetesereignisse pro 1000 Personenjahren. In Tabelle 1 werden alle Charakteristika zu Baseline und die Anzahl der inzidenten Diabetesereignisse in Bezug auf die Gesamtkohorte aufgelistet.

Tab. 1: Basischarakteristika

	Insgesamt (N = 9847)	Frauen (N = 3989)	Männer (N = 5858)
Untersuchungsalter (Jahre)	56.0 (48.8, 61.6)	57.3 (50.0, 62.1)	55.2 (47.7, 61.4)
BMI (kg/m²)	26.4 (23.8, 29.4)	26.1 (23.1, 29.7)	26.5 (24.2, 29.2)
Systolischer Blutdruck (mmHg)	134.5 (121.0, 150.0)	133.0 (119.0, 149.5)	135.0 (122.6, 151.0)
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	82.0 (75.0, 90.0)	80.0 (73.0, 88.0)	83.0 (76.0, 91.0)
Gesamtcholesterin (mg/dL)	229.0 (201.1, 263.0)	235.9 (205.0, 270.7)	224.3 (200.0, 255.2)
HDL Cholesterin (mg/dL)	53.0 (44.1, 64.2)	60.3 (50.3, 71.5)	49.1 (41.4, 58.4)
LDL Cholesterin (mg/dL)	144.8 (120.8, 173.9)	147.9 (122.0, 178.4)	143.0 (119.8, 170.4)
Triglyceride (mg/dL)	121.0 (87.0, 176.0)	111.0 (81.0, 154.0)	129.0 (92.0, 195.0)
Tägliche Raucher Nr. (%)	3021 (30.7)	1131 (28.4)	1890 (32.3)
Diabetes Nr. (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Bluthochdruck Nr. (%)	4758 (48.3)	1842 (46.2)	2917 (49.8)
Cholesterinsenkende Medikamente Nr. (%)	188 (5.1)	89 (5.9)	99 (4.5)
Inzidenz Diabetes Nr. (%)	1733 (17.6)	730 (18.3)	1003 (17.1)
Inzidenz Diabetes-Ereignisse pro 1000 Personenjahre	11.7	11.9	11.6

Basischarakteristika der Teilnehmer:innen. Für kontinuierliche Variablen werden die Quartile angegeben: Median (25. Perzentil, 75. Perzentil). Für binäre Variablen N (%). Für den Endpunkt Diabetes werden Prozentsätze und Ereignisse pro 1000 Personenjahre angegeben. Abkürzungen: BMI = Body-Mass-Index, HDL = High Density Lipoprotein, LDL = Low Density Lipoprotein, Nr. = Nummer, N = Anzahl

3.2 Metabolitassoziationen für zukünftigen DMT2

Nach Analyse von 184 Metaboliten im Patient:innenserum wiesen initial 82 Metabolite eine „signifikante“ Assoziation zu inzidentem DMT2 auf. Die Anzahl reduzierte sich nach Bonferroni-Korrektur für mehrfache Testung auf 59 signifikante Metabolite. Von diesen 59 signifikanten Metaboliten, welche mit einem nominalen P-Wert von weniger als 0,05 assoziiert waren, werden in Tabelle 2 die 20 Metabolite mit den stärksten Assoziationen aufgeführt. Ebenda werden die entsprechenden Hazard Ratios (HR) pro Standardabweichung mit 95%igem Konfidenzintervall sowie die P-Werte dargestellt. Eine Gesamtübersicht aller 59 signifikanten Verbindungen befindet sich in Anhang 1.

In der statistischen Evaluation erreichten 37 Glycerophospholipide, 11 Aminosäuren/biogene Amine, 9 Sphingolipide, 1 Acylcarnitin sowie die Gruppe der Hexosen das Signifikanzniveau (Anhang 1). Acht dieser signifikanten Verbindungen weisen eine positive Korrelation zu Diabetes mellitus Typ 2 auf, die restlichen 51 Metabolite zeigen hingegen einen protektiven Effekt gegenüber der Erkrankung. Positiv korrelieren, bis auf wenige Ausnahmen, primär Aminosäuren und Hexosen. Bei den negativ assoziierten Metaboliten handelt es sich vornehmlich um Acyl-alkyl-Phosphatidylcholine, Diacyl-Phosphatidylcholine und Sphingomyeline.

Den in der Analyse mit Abstand signifikantesten Wert sowie das höchste Risikoverhältnis generierten die Hexosen (Tabelle 2) mit einem P-Wert von 1.90×10^{-110} und einer HR von 1,61 (95 % KI 1.55, 1.68). Erhöhte Hexosequantitäten korrelieren folglich positiv mit DMT2. Das Risiko, während des Follow-up an DMT2 zu erkranken, stieg im Vergleich zu Proband:innen mit normalen Serumhexosekonzentrationen um 61 %. In toto weisen weitere sieben Metabolite eine positive Assoziation zur Etablierung eines DMT2 auf. Sechs dieser risikosteigernden Verbindungen sind Aminosäuren, darunter Valin, Isoleucin, Glutamin, Alanin, Phenylalanin, Leucin. Patient:innen mit erhöhten Serumwerten der Aminosäuren Valin und Isoleucin sind dabei mit einer Hazard Ratio von 1.36 (95 % KI 1.29, 1.45) für Valin und 1.45 (95 % KI 1.32, 1.60) für Isoleucin deutlich mit einem erhöhten Risiko für DMT2 assoziiert. Mit einem P-Wert von 2.18×10^{-24} für Valin und einem P-Wert von 1.85×10^{-13} für Isoleucin sind diese Assoziationen sehr stabil. Umgekehrt weisen die beiden Aminosäuren Glycin und Threonin eine protektive Assoziation auf (Hazard Ratio von 0.91 (95 % KI 0.89, 0.93) respektive 0.95 (95 % KI 0.92, 0.97)).

Alle in Tabelle 2 gelisteten Phosphatidylcholine (PC) und Sphingomyeline (SM) korrelieren durchweg negativ mit einem zukünftigen DMT2, sind also protektiver Natur. Exemplarisch gehen die hochsignifikanten Verbindungen Acyl-alkyl-PC C34:3 und Acyl-alkyl-PC C34:2

(P-Werte von 9.91×10^{-40} bzw. 7.52×10^{-25}) mit einem um 28- bzw. 22 % verringerten Risiko der Entwicklung eines DMT2 einher. Den protektivsten Wert aller 59 signifikanten Metabolite mit einer Hazard Ratio von 0.77 (95 % KI 0.71, 0.83) erreichte Acyl-alkyl-PC C34:3 (Tabelle 2).

Tab. 2 Metabolitassoziationen für inzidenten DMT2

Metabolite	Hazard Ratio pro SD (95 % KI)	P-Wert
Hexosen	1.61 (1.55, 1.68)	1.90×10^{-110}
acyl-alkyl-PC C34:3	0.72 (0.69, 0.76)	9.91×10^{-40}
acyl-alkyl-PC C34:2	0.78 (0.74, 0.82)	7.52×10^{-25}
Valin	1.36 (1.29, 1.45)	2.18×10^{-24}
acyl-alkyl-PC C32:1	0.80 (0.76, 0.83)	6.12×10^{-23}
acyl-alkyl-PC C36:3	0.78 (0.74, 0.82)	6.40×10^{-20}
acyl-alkyl-PC C32:2	0.80 (0.76, 0.84)	6.16×10^{-19}
SM (OH) C14:1	0.81 (0.77, 0.85)	2.83×10^{-18}
acyl-alkyl-PC C44:6	0.80 (0.76, 0.84)	3.54×10^{-18}
SM C16:1	0.90 (0.88, 0.92)	1.90×10^{-17}
acyl-alkyl-PC C44:5	0.78 (0.73, 0.83)	4.14×10^{-16}
acyl-alkyl-PC C40:6	0.80 (0.76, 0.84)	9.75×10^{-16}
lysoPC a C18:2	0.80 (0.75, 0.84)	2.92×10^{-15}
SM (OH) C16:1	0.83 (0.79, 0.87)	8.83×10^{-15}
Glycin	0.91 (0.89, 0.93)	7.30×10^{-14}
Isoleucin	1.45 (1.32, 1.60)	1.85×10^{-13}
acyl-alkyl-PC C42:3	0.77 (0.71, 0.83)	4.00×10^{-12}
diacyl-PC C28:1	0.84 (0.80, 0.88)	1.50×10^{-11}
acyl-alkyl-PC C36:2	0.79 (0.74, 0.85)	2.82×10^{-11}
diacyl-PC C42:0	0.82 (0.78, 0.87)	3.45×10^{-11}

Aufgeführt wird hier ein Ausschnitt von 20 Verbindungen der insgesamt 59 signifikanten Metabolite (P-Wert <0.05). Beschrieben werden deren Hazard Ratios pro Standardabweichung mit 95%igem Konfidenzintervall sowie deren P-Werte. Abkürzungen: SD = Standardabweichung (Standard Deviation), KI = Konfidenzintervall, PC = Phosphatidylcholin, SM = Sphingomyelin, SM (OH) = Hydroxysphingomyelin

3.3 Geschlechtsspezifische Metabolitassoziationen für zukünftigen DMT2

Unter Einbeziehung beider Geschlechter wurde in Abbildung 2 ein Forrest Plot erstellt, welcher bezüglich der Signifikanzniveaus die sechs relevantesten der insgesamt 59 signifikanten Metabolite aufzeigt. Die Assoziationen zwischen Männern und Frauen zeigen in Abbildung 2 konsequent vergleichbare Ergebnisse mit nicht klinisch relevant unterschiedlichen Hazard Ratios.

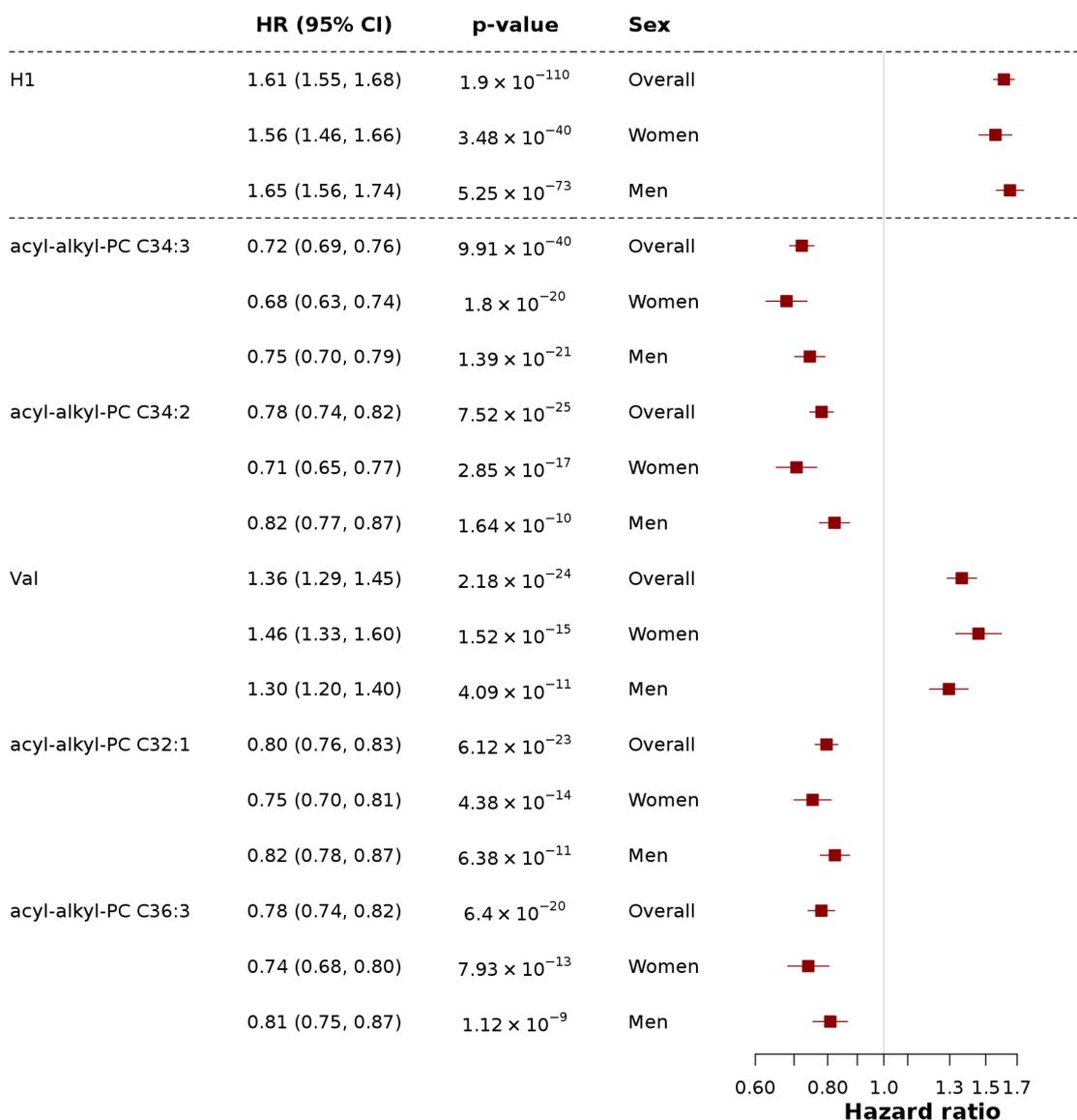


Abb. 2: Geschlechtsspezifische Metabolitassoziationen für zukünftigen DMT2
 In dieser Abbildung werden sechs der 59 signifikanten Metabolite inklusive Hazard Ratios (95 % KI) und P-Werten nach Bonferroni-Korrektur dargestellt. Neben der gemeinsamen Auflistung („Overall“) beider Geschlechter, wurde hier auch eine geschlechtsspezifische Darstellung, sowie eine graphische Veranschaulichung der HRs mittels Forest Plot vorgenommen. Die Berechnung der Metaboliten-Hazard-Ratio für Männer und Frauen erfolgte durch Inklusion einer Metabolit-Geschlechts-Interaktion in das Cox-Modell, d. h., alle Individuen wurden in die Berechnung miteinbezogen (im Gegensatz zur Durchführung getrennter Regressionen für Männer und Frauen). Für die X-Achse wird eine logarithmische Skala verwendet. Die dargestellten Hazard Ratios sind pro Anstieg der Standardabweichung beschrieben. Abkürzungen/Übersetzungen: CI = Konfidenzintervall, p-value = P-Wert, H1 = Hexosen, Val = Valin, Sex = Geschlecht

3.4 Metabolite versus klassische Risikofaktoren

Der prädiktive Wert der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren wie BMI, systolischer Blutdruck, Gesamtcholesterin und täglicher Tabakkonsum wird in Abbildung 3 den sechs signifikantesten Metaboliten gegenübergestellt.

Der BMI hat mit einer HR von 1.98 (95 % KI 1.84, 2.14; P-Wert von 1.11×10^{-69}) den mit Abstand höchsten Risikoschätzer für die Entwicklung eines DMT2. Der prädiktive Wert für systolischem Blutdruck (HR 1.17 (95 % KI 1.09, 1.26), P-Wert: 9.74×10^{-6}) und Nikotinkonsum (HR 1.22 (95 % KI 1.14, 1.30), P-Wert: 1.5×10^{-9}), waren eindeutig niedriger, aber dennoch statistisch signifikant. Überraschenderweise besteht keine Assoziation zwischen Gesamtcholesterin und inzidentem DMT2.

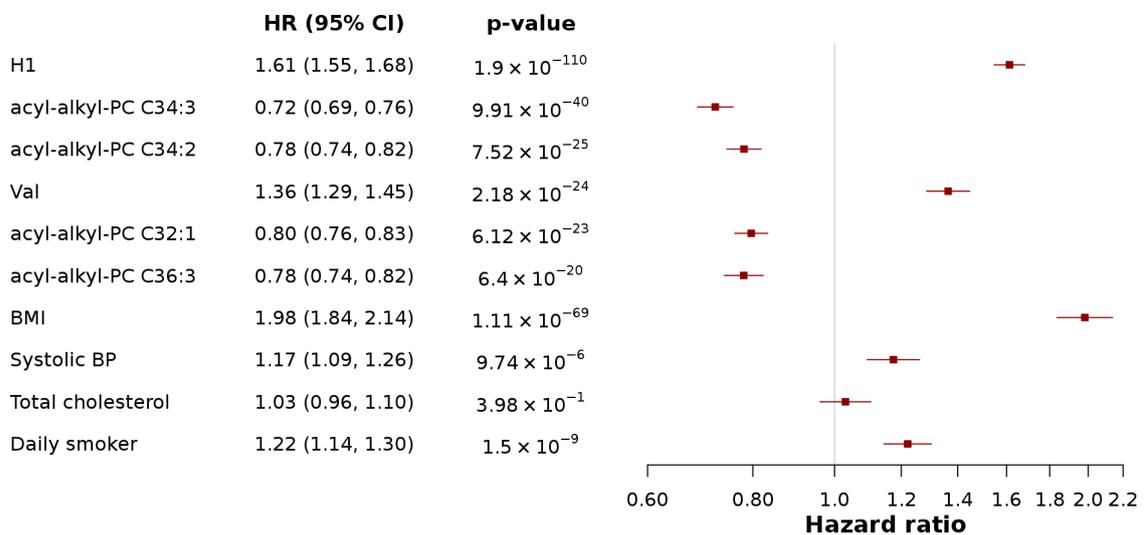


Abb. 3: Metabolite versus klassische Risikofaktoren. Abbildung 2 wurde hier mit den Hazard Ratios (pro 95 % Standardabweichung) der klassischen Risikofaktoren ergänzt. Für jede Version des Metabolitenpanels wurde eine Cox-Regression durchgeführt. Es erfolgte dieselbe vollständige Adjustierung der Variablen wie in den Modellen davor. Die Gefährdungsquotienten werden pro Standardabweichung angegeben. Die X-Achse ist auf einer logarithmischen Skala dargestellt. Abkürzungen/ Übersetzungen: Systolic BP = systolischer Blutdruck, total cholesterol = Gesamtcholesterin, daily smoker = tägliche:r Raucher:in

3.5 Überlebenskurven

Für die Kaplan-Meier-Überlebenskurven wurden die Metabolite in Tertile unterteilt. Die sechs signifikantesten Metabolite sind in Abbildung 4 dargestellt. Die aus der Subkohorte auf Basis der jeweiligen Metabolitentertile gebildeten Gruppen wurden wie folgt eingeteilt:

	Erstes Tertil	Zweites Tertil
Hexosen	3651.62 µM	4355.94 µM
acyl-alkyl-PC C34:3	3.99 µM	5.49 µM
acyl-alkyl-PC C34:2	6.25 µM	8.40 µM
Valin	217.11 µM	273.33 µM
acyl-alkyl-PC C32:1	1.52 µM	1.96 µM
acyl-alkyl-PC C36:3	5.22 µM	6.99 µM

Durch Auftragen des Alters auf die X-Achse fungiert diese als Zeitskala. Die Y-Achse beschreibt die Wahrscheinlichkeit nicht an Diabetes (DIAB free probability) zu erkranken, welche von 1 (100 % der Personen erkranken nicht) bis 0.7 (70 % der Personen erkranken nicht), reicht. „N at risk“ beschreibt die Anzahl der Patient:innen in der Nachverfolgung.

Es ist festzustellen, dass sich die unterschiedliche Metabolitenkonzentrationen erst etwa nach dem 40. Lebensjahr in divergierende Überlebenskurven niederschlagen. Die Hexosen ausgenommen divergieren alle Tertilkurven mit steigendem Alter etwa gleichmäßig voneinander. Bei Personen mit hohen Serumwerten an Acyl-Alkyl Phosphatidylcholin C34:3, C34:2, C32:1, C36:3, besteht mit steigendem Alter ein abnehmendes Risiko, an DMT2 zu erkranken (Abbildung 4). Bei ersterem Metabolit etwa stellt sich ab einem Alter von 80 Jahren und Plasmawerten des höchsten Metabolitendrittel (3rd) ein 10%iges, bei Personen im mittleren Tertil (2nd) ein ca. 16%iges und bei Teilnehmer:innen mit Metabolitkonzentrationen im niedrigsten Tertil (1st) ein ungefähr 24%iges Erkrankungsrisiko dar. Ableitend kann festgestellt werden, dass erniedrigte Serumkonzentrationen der gelisteten Phosphatidylcholone positiv mit der Manifestation eines Typ-2-Diabetes assoziieren. Die Hexosen (H1) und Valin (Val) verhalten sich entgegengesetzt zu den genannten Phosphatidylcholinen. Deduktiv korrelieren in diesen Fällen erhöhte Metabolitenwerte mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit der Entwicklung eines DMT2 während der Nachverfolgung. Exemplarisch dafür beläuft sich der prozentuale Intertertilabstand mit 80 Jahren von Kurve 1 (1st) und 2 (2nd) auf ca. 2 %, wohingegen die Differenz zwischen Kurve 2 (2nd) und 3 (3rd) ungefähr 14 % beschreibt. So erkranken ≤ 10 % der Patient:innen mit Hexoseserumwerten im ersten und zweiten Metabolitentertil,

dafür jedoch etwa 30 % der Individuen mit Konzentrationen des höchsten Tertiles (3rd) bis zum 80. Lebensjahr an DMT2.

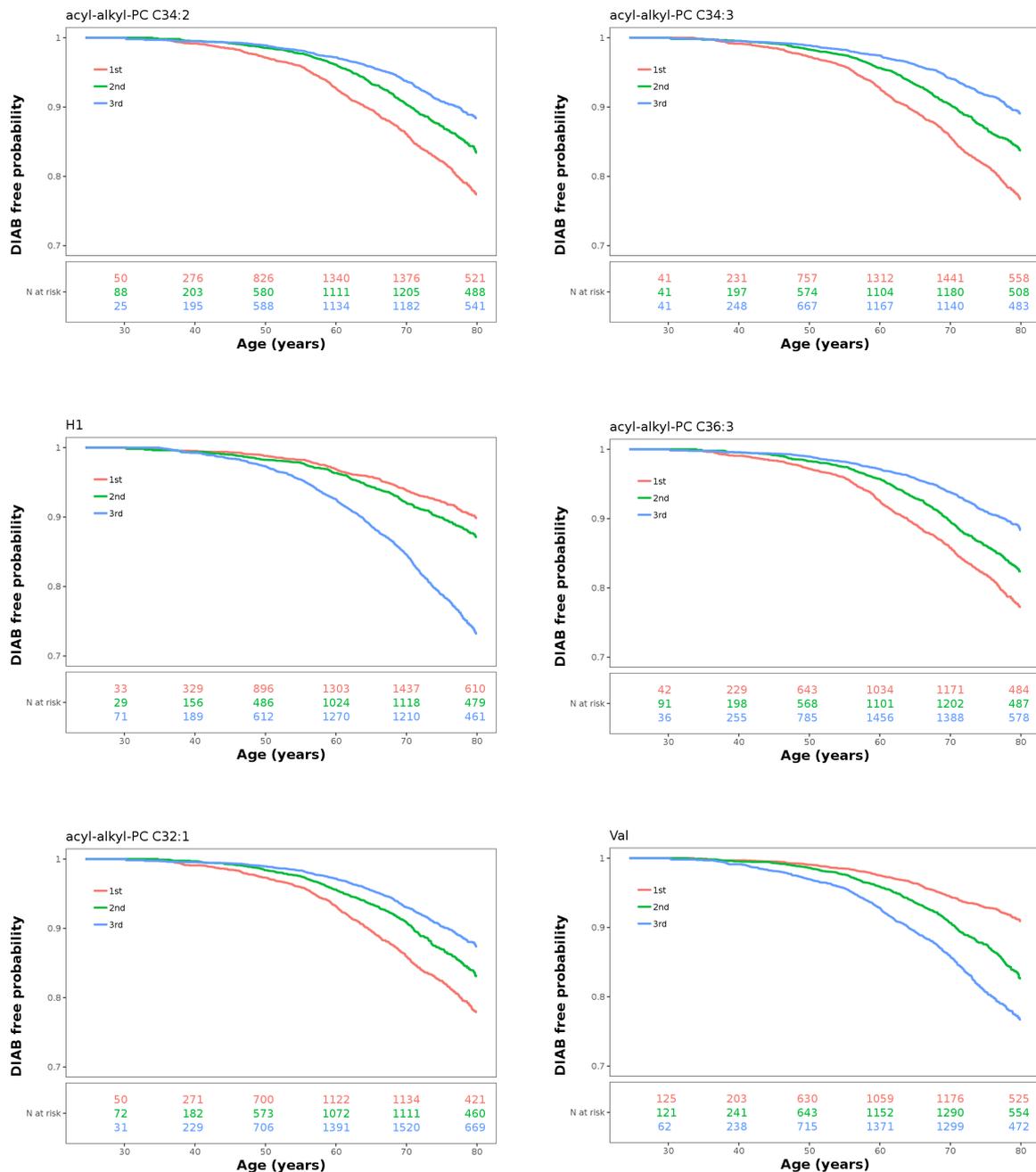


Abb. 4: Überlebenskurven

Die Überlebenskurven werden nach der Kaplan-Meier-Methode dargestellt. Das Alter wird als Zeitskala verwendet. Für jeden der 59 signifikanten Metabolite wurden Überlebenskurven nach den Metaboliten-Tertilen (d. h. durch Bildung von Gruppen auf der Grundlage der Tertile der einzelnen Metabolite) erstellt. Die Drittel wurden für die Subkohorte berechnet und ihre Berechnung wurde mit dem Kehrwert der Einschusswahrscheinlichkeiten gewichtet. Abkürzungen/ Übersetzungen: DIAB = Diabetisches Ereignis, DIAB free probability = Wahrscheinlichkeit, nicht an Diabetes zu erkranken, Age (years) = Alter in Jahren, 1st = erste, 2nd = zweite, 3rd = dritte, N at risk = Anzahl der Patient:innen, die zu einem bestimmten Zeitpunkt noch nachverfolgt werden

3.6 C-Indizes

C-Indizes wurden für die 5, 10 und 20 Jahresprognose von Diabetes zur Bewertung des Diskriminierungswertes der Metabolite errechnet und in Tabelle 3 dargestellt. Bewertet wird ein Modell als schlecht bzw. unzuverlässig bei C-Indizes von 0.5 und kleiner. Ein Wert ab 0.7 suggeriert ein gutes, ein Ergebnis ab 0.8 ein starkes und ein Wert von 1 ein perfekt prognostizierendes Modell. In den Berechnungen der 20-Jahres-Wahrscheinlichkeit stellen sich alle 59 signifikanten Metabolite mit einem C-Index von > 0.7 dar (Anhang 2). Den besten Diskriminierungswert unter den Metaboliten erreichten die Hexosen mit 0.787 (95 % KI, 0.771, 0.803), direkt gefolgt von Acyl-alkyl Phosphatidylcholin C34:3 mit 0.762 (95 % KI 0.746, 0.778) und Valin mit 0.757 (95 % KI 0.740, 0.773). Neben den C-Indizes der signifikanten Metabolite wurden ebenso jene der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren (BMI, systolischer Blutdruck, Gesamtcholesterin, Raucher-Status, Untersuchungsalter und Geschlecht) sowie deren Kombination untereinander ermittelt. Mit einem C-Index von 0.800 (95 % KI 0.713, 0.745) erreichte der BMI den besten Wert unter den einzelnen Parametern, wohingegen der diskriminative Faktor der restlichen Risikofaktoren mit C-Indizes von > 0.7 vergleichbar mit jenen der Metabolite war. Um die additiven Werte der Metabolite zu den konventionellen Risikofaktoren zu errechnen, wurden Letztere in einem Basismodell summiert, welches als solches bereits einen sehr starken C-Index von 0.815 ergab. Die Kombination der sechs stärksten Metabolite mit dem Basismodell konnte den C-Index jeweils nur geringfügig verbessern und der Anstieg war nicht für alle Metabolite statistisch signifikant. Den höchsten C-Index erreichte die Kombination aus Basismodell und Hexosen (0.842 (95 % KI 0.826, 0.858; P-Wert < 0.001)).

Tab. 3: C-Indizes

	C-Index (95 % KI)	C-Index Differenzen (95 % KI)	P-Wert
Hexosen	0.787 (0.771, 0.803)	-0.0277 (-0.0422, -0.0131)	<0.001
acyl-alkyl-PC C34:3	0.762 (0.746, 0.778)	-0.0527 (-0.0648, -0.0406)	<0.001
Valin	0.757 (0.740, 0.773)	-0.0582 (-0.0715, -0.0449)	<0.001
acyl-alkyl-PC C34:2	0.753 (0.737, 0.769)	-0.0617 (-0.0738, -0.0496)	<0.001
acyl-alkyl-PC C32:1	0.742 (0.725, 0.758)	-0.0731 (-0.0859, -0.0603)	<0.001
acyl-alkyl-PC C36:3	0.748 (0.732, 0.764)	-0.0669 (-0.0792, -0.0546)	<0.001
BMI	0.800 (0.784, 0.816)	-0.0147 (-0.0204, -0.0088)	<0.001
Systolischer BD	0.755 (0.739, 0.772)	-0.0594 (-0.0706, -0.0481)	<0.001
Männlich	0.738 (0.721, 0.754)	-0.0770 (-0.0894, -0.0646)	<0.001
Tägliche Raucher	0.730 (0.714, 0.746)	-0.0845 (-0.0973, -0.0716)	<0.001
Untersuchungsalter	0.729 (0.713, 0.746)	-0.0853 (-0.0983, -0.0722)	<0.001
Basismodell	0.815 (0.799, 0.831)	-	-
Basismodell+ Hexosen	0.842 (0.826, 0.858)	0.0273 (0.0210, 0.0335)	<0.001
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C34:3	0.821 (0.805, 0.838)	0.0066 (0.0035, 0.0097)	<0.001
Basismodell+ Valin	0.820 (0.804, 0.837)	0.0057 (0.0023, 0.0092)	0.0010
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C34:2	0.818 (0.802, 0.834)	0.0035 (0.0012, 0.0058)	0.0029
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C32:1	0.817 (0.801, 0.833)	0.0021 (-0.0003, 0.0045)	0,081
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C36:3	0.817 (0.801, 0.833)	0.0021 (-0.0002, 0.0045)	0,078

Unter Verwendung der 20-Jahres-Diabeteswahrscheinlichkeit werden die C-Indizes für die 6 signifikantesten Metabolite, die bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren und Vergleiche mit dem Basismodell angezeigt.

4. Diskussion

Unsere prospektive epidemiologische Studie hat unter Anwendung eines Fall-Kohorten-Designs den prädiktiven Wert von 184 Serummetaboliten für den inzidenten DMT2 untersucht. Durch die außergewöhnliche Größe der Studie liefert diese im Bereich der prädikativen Metabolomikforschung zu Diabetes mellitus Typ 2 eine nahezu definitive Antwort.

Als limitierender Parameter unserer Studie ist unter anderem die von uns angewandte zielgerichtete Metabolomik zu nennen. Trotz der sicherlich sehr umfangreichen Analyse des Patient:innenserums auf 184 formal festgelegte Metabolite kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine nicht zielgerichtete Analyse noch unbekannte und möglicherweise relevantere Verbindungen für die Prädiktion und damit eventuell auch Prävention von Diabetes mellitus hervorbringen könnte (Cavus et al. 2019). Darüber hinaus ist zu bedenken, dass es sich bei den Teilnehmer:innen um lebende Individuen handelt, dessen Lebensstil bzw. Lebensumstände sich im Verlauf der Studie verändert haben könnten (Cavus et al. 2019; Geidenstam et al. 2017), was durch die Blutabnahme zu Baseline nicht abgebildet werden würde. Die ständig im Wandel stehenden Parameter wie Ernährung, Umwelteinflüsse, Komorbiditäten, körperlicher Aktivitätszustand und Medikation sind nicht einkalkulierbar und können mit dem humanen Metabolom interagieren (Andraos et al. 2019; Wakita et al. 2018; Sedlmeier et al. 2018).

Im Folgenden werden die Ergebnisse der einzelnen analytischen Gruppen unserer Studie beleuchtet und mit der Literatur verglichen.

4.1 Hexosen

Der in unseren Analysen stärkste Prädiktor, die Gruppe der Hexosen, wird von der Glukose dominiert. Erhöhte Glukosekonzentrationen werden in entsprechenden Analysen oft ausgeschlossen, weil dieser Metabolit einen Diabetesstatus definiert (Fiehn et al. 2010). Als etablierter klinischer Indikator für Diabetes mellitus zählt Glucose zu den wichtigsten Prädiktoren dieser Entität und verteidigt nach wie vor seinen essentiellen Stellenwert in der Risikobewertung von DMT2 (Klein et al. 2016).

Im Gegensatz dazu untersuchten wir „Hexosen“, welche als Sammelbegriff alle Monosacharide mit sechs Kohlenstoffatomen subsumieren (Floegel et al. 2013). Die Hexosen umfassen neben der Glucose auch die Fruktose, welche in der Literatur ebenso positiv mit der Entwicklung eines DMT2 (Floegel et al. 2013; Fiehn et al. 2010) assoziiert ist. Wahrscheinlich besteht hier auch ein kausaler Zusammenhang mit der Entwicklung einer Insulinresistenz (Xu et al. 2013).

In einer systematischen Metaanalyse von Guasch-Ferré et al. wurden 27 Querschnittsstudien und 19 prospektive Studien hinsichtlich des Zusammenhangs verschiedener Metabolite und Prä-/Diabetes analysiert (Guasch-Ferré et al. 2016). In mehr als 10 nicht prospektiven Studien und 5 prospektiven Analysen wurden Zuckermetabolite wie Glukose, Dihexose, Mannose, Arabinose und Fruktose positiv bzw. signifikant positiv mit Prädiabetes und DMT2 assoziiert (Guasch-Ferré et al. 2016). In einer Fall-Kohorten-Studie der European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam wurden Hexosen zusammen mit Diacyl-Phosphatidylcholinen, BCAAs, aromatischen Aminosäuren und Propionylcarnitin signifikant mit einem 3,82-fach erhöhten Diabetesrisiko in Verbindung gebracht (Floegel et al. 2013).

4.2 Aminosäuren

Wir fanden für 8 Aminosäuren einen signifikanten Zusammenhang mit DMT2. Erhöhte Serumwerte der Verbindungen Valin, Isoleucin, Glutamin, Alanin, Phenylalanin und Leucin sind assoziiert mit einem erhöhten Diabetesrisiko, wohingegen bei Glycin und Threonin ein leicht protektiver Effekt festgestellt werden konnte.

In einer mit unserer Studie vergleichbaren Untersuchung von Wang et al. wurden 62 Metabolite in zwei prospektiven Kohorten mit jeweils mehr als 3000, zum Zeitpunkt der Blutabnahme augenscheinlich gesunden, Teilnehmer:innen evaluiert (Wang et al. 2011). Analog zu unserer Studie wurde eine hochsignifikante Assoziation zwischen 5 verzweigtkettigen und aromatischen Aminosäuren und inzidentem Diabetes festgestellt. Das Risiko, innerhalb des 12-Jahres-Follow-up einen DMT2 zu entwickeln war bei Plasmaamino säurespiegeln des höchsten Quartils von Valin, Leucin, Isoleucin, Tyrosin oder Pheynlalanin im Vergleich zu jenen des untersten Quartiles um das 2-3,5-fache erhöht (Wang et al. 2011). Wurden drei Aminosäuren kombiniert, stieg das Erkrankungsrisiko noch weiter an (Wang et al. 2011). Die Kombination Isoleucin, Phenylalanin und Tyrosin mit Konzentrationen im obersten Quartil führten zu einem 5-7-fach gesteigerten Diabetesrisiko (Wang et al. 2011). Die daraus resultierende Hypothese, dass Aminosäureprofile bei der Abschätzung des Diabetesrisikos hilfreich wären bzw. eine Hyperaminoazidämie als über Jahre vorausgehender Prädiktor für DMT2 fungieren könnte, besteht schon seit mehr als 30 Jahren und findet sich in zahlreichen Studien wieder (Arany und Neinast 2018; Felig et al. 1969,1970). Es besteht eine starke Korrelation zwischen verzweigtkettigen Aminosäuren (Valin, Leucin, Isoleucin) und der Entstehung einer Insulinresistenz mit konsekutiver Manifestation eines DMT2 (Palmer et al. 2015; Guasch-Ferré et al. 2016; Gar et al. 2018; Jun et al. 2020; Sonny et al. 2015).

Erhöhte Level verzweigtkettiger Aminosäuren (im Folgenden BCAAs genannt, engl. für branched-chain amino acids) wurden lange als Konsequenz einer Insulinsesistenz

interpretiert, jedoch spricht heute aufgrund verstärkter Grundlagenforschung stoffwechselbedingter Pathomechanismen vieles für eine BCAA bedingte Insulinresistenz (Arany und Neinast 2018).

In zahlreichen Analysen wurde bei Erhöhung der Aminosäurekonzentration im Plasma von Patient:innen, induziert durch eine proteinreiche Ernährung oder durch Aminosäureinfusionen, eine akut verminderte Insulinsensitivität vernommen (Harris et al. 2017; Krebs et al. 2002; Bloomgarden 2018). Des Weiteren konnte in einer Studie von Zhou et al. bei genetisch adipösen Mäusen eine vermehrte Anhäufung BCAAs/BCKAs (Branched-Chain Keto Acid = verzweigtkettige Ketosäure) im Zuge einer Herabregulierung BCAA-abbauender Gene gefunden werden (Zhou et al. 2019). Nach Korrektur des Katabolismusdefektes resultierte infolge verringerter Mengen an BCAAs/BCKAs eine gesteigerte insulinvermittelte Glukoseverwertung (Zhou et al. 2019). Ein gestörter BCAA-Katabolismus könnte deduktiv eine kausale Rolle bei der Entstehung einer Insulinresistenz spielen (Zhou et al. 2019).

Die in zahlreichen Studien rapportierte Herabregulierung des BCAA-Stoffwechsels konnte jedoch nur dann in Mäusen und anderen Säugetieren festgestellt werden, wenn bereits eine Fettleibigkeit bestand (Zhou et al. 2019; Lu et al. 2013; Menni et al. 2013; Tiffin et al. 2006). Eine Analyse von Pietiläinen et al. mit eineiigen Zwillingen mit unterschiedlichem BMI konnte eine Unterdrückung im BCAA-Abbau aufgrund des durch Adipositas modifizierten Metabolismus konstatieren (Pietiläinen et al. 2008). Diese Ergebnisse suggerieren eine vom Ernährungszustand abhängige abnorme BCAA-katabole Genexpression (Pietiläinen et al. 2008), was zu einer Insulinresistenz beiträgt (Zhou et al. 2019; Lu et al. 2013).

Dass ein kausaler Zusammenhang zwischen erhöhten BCAA-Konzentrationen und der Entwicklung einer Insulinresistenz besteht, konnte trotz der enormen Fülle an Publikationen nicht eindeutig bewiesen werden; die Hypothese wird durch die bestehenden Analysen jedoch maßgeblich gestützt (Newgard et al. 2009; O'Connell 2013; Zhou et al. 2019).

Der genaue Insulinresistenz vermittelnde Pathomechanismus in Bezug auf erhöhte BCAA-Konzentrationen ist noch nicht abschließend geklärt. Vermutet wird ein multifaktorielles Zusammenspiel simultan ablaufender Prozesse (Newgard et al. 2009; Muoio und Newgard 2008). Eine zentrale Rolle scheint die BCAA induzierte Aktivierung von mTORC1, einem zellulären Proliferationsförderer, welcher an diversen Phosphorylierungsprozessen beteiligt ist, zu spielen (Aneth et al. 2019; Newgard et al. 2009; O'Connell 2013). Eine Hyperaktivität des mTOR Signalweges führt in Betazellen zur Aktivierung der S6-Kinase, welche die Insulinrezeptorsubstrate blockiert, weshalb folglich kein Insulin mehr sezerniert werden

kann (Aneth et al. 2019). Durch die spezifische Hemmung von mTORC1 durch Rapamycin konnte im Tiermodell eine BCAA induzierte Insulinresistenz teilweise aufgehoben werden (Newgard et al. 2009). Schlussfolgernd könnte eine Aktivierung von mTORC1 zu einer Entkopplung der Insulinsignalisierung führen (Newgard et al. 2009; O'Connell 2013; Lynch und Adams 2014; Zhou et al. 2019).

Als weiterer potentieller Mechanismus wird eine chronische Hyperinsulinämie beleuchtet, welche vor allem postprandial schon lange vor veränderten Nüchtern-Blutglukosespiegeln zur Entwicklung einer Insulinresistenz beiträgt (Arany und Neinast 2018; Steneberg et al. 2005). Zum einen führt der persistierende Sekretionsdruck der β -Zellen konsekutiv zur baldigen Erschöpfung jener, zum anderen initiiert die konstante Stimulierung der peripheren Insulinsignalgebung eine kompensatorische Desensibilisierung (Arany und Neinast 2018).

Das aus Adipozyten stammende katabole Zwischenprodukt 3-Hydroxyisobutyrat (3-HIB) ist im Unterschied zu allen übrigen BCAA- Abbauprodukten nicht an CoA gebunden und kann so aus den Mitochondrien und konsekutiv aus der Zelle entweichen (Arany und Neinast 2018). Der Coaktivator PGC-1 α definiert 3-HIB zum neuen Regulator des trans-endothelialen Fettsäuretransports, welcher durch Stimulation der Kapilarendothelzellen den Fettsäurefluss und die Lipidakkumulation im Muskel fördert (Jang et al. 2016; Arany und Neinast 2018). Dieser Mechanismus kann ebenso in einer Insulinresistenz resultieren (Jang et al. 2016; Nilsen et al. 2020; Arany und Neinast 2018; Mardinoglu et al. 2018).

Weiterhin stimulieren BCAAs die Insulinausschüttung und könnten so eine verringerte Insulinsensitivität der peripheren Organe fördern (Arany und Neinast 2018). In diesem Zusammenhang wird auch von einer komplexen Interaktion von BCAAs und Fettsäuren berichtet (Arany und Neinast 2018; Muoio und Newgard 2008). Lipide wirken wie BCAAs insulinsekretionssteigernd und unterstützen so zusätzlich eine sukzessive Dysregulation der insulinsezernierenden β -Zellen (Arany und Neinast 2018). Additiv verursacht der konstante Sekretionsdruck Stressreaktionen im endoplasmatischen Retikulum, was in der Folge zum Abbau von β -Zellmasse führt (Muoio und Newgard 2008; Newgard 2012).

Trotz der enormen Anzahl an Studien, welche mit unseren Erkenntnissen weitgehend übereinstimmen, existieren auch Daten, welche diesen widersprechen. Existent sind Studien an Mäusen und Ratten, welche eine chronische Leucin Supplementation aufgrund einer resultierenden Remission einer Lebersteatose (Macotela et al. 2011), verbesserten Insulinsensitivität (Binder et al. 2013; Li et al. 2013), gesteigerten Glukosetoleranz und verminderten Entzündungsreaktion des Fettgewebes (Macotela et al. 2011) als präventiv

für DMT2 hypothesieren. Diese Untersuchungen müssen jedoch kritisch betrachtet werden. Bei Vorherrschen einer Insulinresistenz oder einem DMT2 zirkulieren alle 3 BCAAs sowie multiple andere Aminosäuren im Plasma der Betroffenen (Arany und Neinst 2018; Wang et al. 2011). Eine reine Leucin Supplementation führt zu einem isolierten Anstieg der Leucinkonzentration und jene der restlichen BCAAs nimmt ab, was für das Stoffwechselmodell der menschlichen Fettleibigkeit kaum repräsentativ ist (Wang et al. 2011; Newgard 2009, 2012). Des Weiteren wurde in diversen Studien festgehalten, dass die BCAA-Spiegel bereits bei Prädiabetiker:innen und insulinresistenten Proband:innen erhöht sind, trotz relativ normalem Körpergewicht, weshalb ein protektiver Effekt von BCAAs gegenüber Diabetes widersprüchlich und unvereinbar scheint (Wang et al. 2011; Newgard 2009, 2012).

4.2.1 Glycin

Als Aminosäure mit dem geringsten Molekulargewicht (Razak et al. 2017), bestehend aus einem Kohlenstoffmolekül, einer Amino- und einer Carboxylgruppe (Hall 1998), wird Glycin für zahlreiche Stoffwechselforgänge beim Menschen und vielen Säugetieren benötigt (Razak et al. 2017). Durch das Wasserstoffatom in der Seitenkette und seiner geringen Größe fungiert es als flexibles Bindeglied und kann sowohl hydrophile wie auch hydrophobe Anteile in die Polypeptidkette eingliedern (Hall 1998). Da Glycin endogen synthetisiert wird, gilt es formal als nicht-essentielle Aminosäure (Alves et al. 2019). Die Synthese ist jedoch limitiert und kann gelegentlich dem Stoffwechselbedarf nicht nachkommen (Alves et al. 2019). Auf dieser Basis wird für Glycin in der Literatur teilweise auch die Einordnung als semi-essentielle Aminosäure vorgeschlagen (Alves et al. 2019). Aufgrund seiner zentralen metabolischen Rolle wirkt sich ein chronischer Glycinmangel auf den gesamten Organismus aus (Hall 1998). Neben der Funktion als Proteinbaustein für multiple wichtige Metabolite, wie z.B. Kreatin, Glutathion, Häm, Purine und Porphyrine (Razak et al. 2017), ist Glycin auch eine bioaktive Verbindung und beteiligt sich an der Regulierung der Genexpression und der Proteinaktivität (Alves et al. 2019). Niedrige Glycinlevel wurden oft in Verbindung mit Stoffwechselstörungen wie Fettleibigkeit, DMT2 und nichtalkoholischer Fettlebererkrankung (NAFLD) festgestellt, was hypothesieren lässt, dass Glycin in der Pathogenese dieser Erkrankungen eine Rolle spielt (Alves et al. 2019).

In unseren Analysen wurde eine signifikante Assoziation zwischen Glycinspiegeln bei Baseline und inzidentem DMT2 festgestellt. Erhöhte Serumkonzentrationen von Glycin und Threonin weisen gegenüber den übrigen signifikanten Aminosäuren (Valin, Isoleucin, Glutamin, Alanin, Phenylalanin, Leucin) eine inverse Assoziation zu DMT2 auf. Dies wird auch unterstützt von Daten der Metaanalyse von Okekunle et al., bestehend aus 47 Fall-

Kohorten-Studien, u.a. mit gesunden adipösen Proband:innen, Typ-2-Diabetiker:innen und Proband:innen mit metabolischem Syndrom (Okekunle et al. 2017). Die Autor:innen berichteten über alle Patient:innengruppen hinweg erniedrigte Glycinplasmaspiegel (Okekunle et al. 2017). Eine Zunahme der Glycinkonzentration wurde bei Fettleibigen oder Diabetiker:innen nach Gewichtsreduktion durch bariatrische Chirurgie festgestellt (Tulipani et al. 2016; Gralka et al. 2015). Glycinspiegel scheinen neben der körperlichen Konstitution auch vom Fitnesslevel beeinflusst zu werden (Glynn et al. 2015). So wurden in einer Analyse von Glynn et al. bei trainierten übergewichtigen Patient:innen signifikant höhere Glycinlevel vernommen als in der untrainierten übergewichtigen Vergleichsgruppe (Glynn et al. 2015). Durch Metabolomanalysen beobachtete man nach dem Training eine Zunahme von Glycinkonjugaten im Urin der übergewichtigen Proband:innen (Glynn et al. 2015). Dieser Befund spricht für eine effizientere Ausscheidung überschüssiger Acylgruppen aus dem Stoffwechsel von BCAAs und aromatischen Aminosäuren durch Formation von Glycinmolekülen im Urin (Glynn et al. 2015). Des Weiteren wurden konsequent erniedrigte Plasmaglycinspiegel bei normalgewichtigen Nachkommen von Eltern mit DMT2 im Vergleich zu Personen mit fehlender diabetischer Familienanamnese festgestellt (Adeva-Andany et al. 2018).

Hohes Plasmaglycin korreliert positiv mit der Insulinsensitivität (Bloomgarden 2018) und dazu invers mit der Insulinresistenz und der Insulinsekretion (Takashina et al. 2016). Verminderte Plasmaglycinwerte werden folglich in vielen prospektiven Analysen als Prädiktor eines DMT2 angegeben (Adeva-Andany et al. 2018). Des Weiteren gibt es Überlegungen, dass Glycin künftig als präventives Agens bei adipösen oder prädiabetischen Patient:innen Verwendung finden könnte (Alves et al. 2019). Eine Glycinsupplementation (5 g/Tag) ging in einer kleinen Supplementationsstudie mit einer verbesserten Insulinsensitivität und Glukosetoleranz einher (Gannon et al. 2002; González-Ortiz et al. 2001). Diese Annahmen sind allerdings nur hypothesengenerierend und müssen in umfangreicheren Langzeitstudien weiter untersucht werden (Alves et al. 2019).

4.3 Lipide

Phospholipide setzen sich aus einem hydrophilen Ende, dem Phosphoranteil und einem hydrophoben Rest sowie dem Lipidteil zusammen und sind somit amphiphil (Chang et al. 2019). Sie bilden den wesentlichsten Bestandteil der Doppellipidschicht von Biomembranen (Renne und de Korn 2018). Wird die Phosphorgruppe der Phospholipide mit dem primär einwertigen Alkohol Cholin ergänzt und mit einem Glycingerüst verknüpft, entsteht Phosphatidylcholin (Renne und de Korn 2018). Viele klinische Studien beschäftigten sich bereits mit der Wechselwirkung von Insulinsensitivität und Phosphatidylcholinen, da letztere

in Zellen von Säugetieren die omnipräsentesten Phospholipide darstellen (Chang et al. 2019). Eine weitere Gruppe der Lipide bilden die Sphingolipide, welche ein Sphingosingerüst enthalten. Aus der Gruppe der Sphingolipide werden lediglich die Sphingomyeline aufgrund der verbindenden Phosphatgruppe zwischen Fettsäurekette und Sphingosin zu den Phospholipiden gezählt, welche ebenso einen essentiellen Bestandteil von Säugetierzellen bilden und prädominant am äußeren Blatt der Plasmamembran vorzufinden sind (Dickson 1998).

Eine, in Studienaufbau und Methodik stark der unseren Analyse ähnelnde, prospektive epidemiologische Fall-Kohorten-Studie von Floegel et al. aus dem Jahr 2013, identifizierte 849 Typ-2-Diabetiker:innen aus der Gesamtkohorte der (EPIC)-Potsdam mit 27548 Erwachsenen. Die 849 inzidenten Diabetesfälle sowie eine zufällig erstellte repräsentative Subkohorte von 2282 Teilnehmer:innen wurden als Fall-Kohorten-Studie über ein Follow-up von 7 Jahren verfolgt (Floegel et al. 2013). Den Teilnehmer:innen der Subkohorte wurden zu Studienbeginn Blutproben entnommen und diese mittels zielgerichteter Metabolimik auf 163 Metabolite untersucht (Floegel et al. 2013). Darunter fielen wie in unserer Studie Acylcarnitine, Aminosäuren, Hexosen, Glycerophospholipide und Sphingolipide. Die Analyse ergab unter anderem eine signifikante protektive Assoziation verschiedener Lipid-Metabolite mit DMT2 (Floegel et al. 2013). Hierunter befanden sich Acyl-Alkyl-Phosphatidylcholine C34:3, C40:6, C42:5, C44:4, C44:5, Sphingomyelin C16:1, Hydroxysphingomyelin C22:2 und Lysophosphatidylcholin C18:2, was sich mit unseren Ergebnissen ausnahmslos deckt. Zudem wiesen die Lipid-Metabolite Phosphatidylcholin-diacyl C38:3, C40:4, C40:5, C36:1, C36:3 und C32:1 eine positive Assoziation auf (Floegel et al. 2013). Diacyl-Phosphatidylcholine assoziieren in unserer Analyse jedoch nicht kollektiv negativ mit einem Diabetes melitus Typ 2. Fünf der sechs Diacyl-PC (C42:2, C36:0, C42:1, 42:0, C28:1) unserer Analyse zeigen einen protektiven Effekt gegenüber DMT2. In der Analyse von Floegel et al. wurden die Diacyl-phosphatidylcholine C32:1, C36:1, C38:3 und C40:5 hingegen mit einem gesteigerten Diabetesrisiko in Verbindung gebracht (Floegel et al. 2013).

Ähnliche Erkenntnisse lieferte auch eine jüngere Studie von Semba et al., welche erhöhte Serumspiegel diverser Acyl-Alkyl Phosphatidylcholine (C32:1, C32:2, C34:1, C34:2, C34:3, C36:2, C36:3, C40:5, C40:6, C42:3, C42:4, and C42:5) mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit eines abnormalen HOMA-IR (**H**omeostasis **M**odel **A**ssessment of **I**nsulin **R**esistance), eine Methode zur Quantifizierung der β -Zellfunktion und der Insulinresistenz (Wallace et al. 2004), assoziierten (Semba et al. 2018). Ferner existiert eine Studie von Pietiläinen et al., die eine gesteigerte Insulinsensitivität und eine reduzierte

Insulinsekretion bei erhöhten Acyl-Alkyl PC-Konzentrationen identifizierten, was sich ebenso mit unseren Daten vereinbaren lässt (Pietiläinen et al. 2007).

Bereits bekannt ist, dass die Insulinempfindlichkeit des Menschen durch eine Veränderung der Fettsäurezusammensetzung in der Zellmembran beeinflusst wird (Borkman et al. 1993; Clore et al. 2000). Die Studie von Funai et al. berichtet über eine Reduktion der Cholin/Ethanolamin-Phosphotransferase 1 (CEPT1) im Skelettmuskel, dem Schlüsselenzym im finalen Abschnitt der Phosphatidylcholinsynthese, nach chirurgischer Gewichtsreduktion bei fettleibigen Patienten:innen. Bei adipösen Proband:innen korrelierte die CEPT1-Konzentration im Muskel negativ mit der Insulinsensitivität, was schlussfolgern ließe, dass Fettleibigkeit sowie eine lipogene Ernährung die vermehrte Expressierung von CEPT1 stimuliert und CEPT1 eine Rolle bei der Entwicklung einer Insulinresistenz spielen könnte (Funai et al. 2015).

Verminderte Serumphosphatidylcholine und Lysophosphatidylcholine wurden auch bei atherosklerotischen Patient:innen festgestellt (Paapstel et al. 2018). Diabetes mellitus ist ein relevanter Risikofaktor für atherosklerotische Gefäßveränderungen (Assmann und Schulte 1988). In einer Studie von Paapstel et al. wurden bei Patient:innen mit symptomatischer Atherosklerose, im Vergleich zur gesunden Kontrollkohorte, eine erhöhte Ruheherzfrequenz, vermehrte arterielle Steifigkeit und eine schlechtere Endothelfunktion im Zusammenhang mit niedrigeren Serumphosphatidylcholinen und Lysophosphatidylcholinen festgestellt (Paapstel et al. 2018). Da diese Lipidklassen unter anderem auch als Speicher und Transportmedium von Glycerophospholipidbestandteilen fungieren, könnte eine Verringerung ihrer Konzentrationen zu einem Mangel an Cholin führen (Paapstel et al. 2018; Zeisel und da Costa 2009). Cholinmangel, als Vorstufe des Neurotransmitters Acetylcholin, könnte so die festgestellte Bradykardie bei Patienten mit veränderten PC- und LysoPC-Profilen erklären (Zeisel und da Costa 2009).

Serumspiegel von Lysophosphatidylcholin, als Hydrolyseprodukt von Phosphatidylcholin, sind in fettleibigen Proband:innen und Proband:innen mit DMT2 reduziert (Barber et al. 2012). Die negative Assoziation der Lysophosphatidylcholine a C17:0, a C18:1, a C18:2 in unserer Studie findet in den Daten aus Floegel et al. und Suvitaival et al. Übereinstimmung. Die Autor:innen stellten fest, dass eine charakteristische Lipidsignatur bereits Jahre vor der Manifestation eines DMT2 vorliegt, wodurch Lipid-Biomarker die Prädiktion von DMT2 verbessern können (Floegel et al. 2013; Suvitaival et al. 2018).

Auch Serumspiegel von Sphingomyelinen sind im Zusammenhang mit einer Insulinresistenz alterniert (Floegel et al. 2013; Suvitaival et al. 2018; Semba et al. 2018). In unserer Studie gehen alle Sphingomyeline (C24:1, 26:1, 16:0, 18:1, 16:1) und Hydroxysphingomyeline (C14:1, C16:1, C24:1, C22:2) durchweg mit einem reduzierten Diabetesrisiko einher. Diese Daten lassen sich neben der bereits oben erwähnten Studie von Floegel et al. von 2013 auch mit der Studie von Semba et al. vereinbaren, welche erhöhte Plasmakonzentrationen von Sphingomyelin C16:0, C24:1 und C26:1 mit einem geringeren Risiko gegenüber einem abnormen HOMA-IR assoziierten (Semba et al. 2018). Demgegenüber steht jedoch eine Studie von Younsi et al., welche nicht-diabetische, fettleibige Frauen mit schlanken, gesunden Frauen in Bezug auf den HOMA-IR und deren Membran-Phospholipidkonzentrationen verglich (Younsi et al. 2002). Hier korrelierte der Membransphingomyelin und -phosphatidylcholingehalt sowohl bei den übergewichtigen wie auch bei den schlanken Teilnehmer:innen positiv mit dem HOMA-Index (Younsi et al. 2002). Eine Verringerung des Körpergewichts und -fettanteils im Zuge einer dreiwöchigen diätischen Gewichtsreduktion brachte jedoch nur in der Gruppe der bereits insulinresistenten Frauen eine Verbesserung des Membransphingomyelingehaltes (Younsi et al. 2002). Eine Veränderung der Sphingomyelinkonzentration in Biomembranen steht also im Zusammenhang mit einer abnormen Glukoseaufnahme (Chang et al. 2019). Ob diese Korrelation nun positiv oder negativ assoziiert ist, kann nach gegenwärtiger Datenlage nicht eindeutig determiniert werden (Chang et al. 2019). Die widersprüchlichen Studienergebnisse lassen darauf schließen, dass einzelne Sphingomyeline potentiell differentiell mit einer Insulinresistenz korrelieren (Chang et al. 2019).

4.4 Acylcarnitin

Die Gruppe der Acylcarnitine (CN) und ihr Einfluss auf Diabetes wurde in multiplen Publikationen untersucht (Zhao et al. 2020; Adeva-Andany et al. 2017; Meierhofer 2019; Guasch-Ferré et al. 2019). Durch reversible Veresterung von Acylgruppen auf L-Carnitin durch das Carnitin-Acyltransferase-System resultiert die Bildung von Acylcarnitin (Meierhofer 2019). Diese Verbindung fungiert als Transportform für Fettsäuren durch die lipophile Doppelmembran der Mitochondrien, woraufhin die β -Oxidation stattfinden kann. (Adeva-Andany et al. 2017; Meierhofer 2019). Native oder hereditär bedingte Veränderungen der Acylcarnitine können sich unter anderem in einer Fettsäurestoffwechselfunktion äußern und sind Gegenstand von Neugeborenen-Screenings (Meierhofer 2019).

Unter den 59 signifikanten Metaboliten unserer Analysen befindet sich nur ein Acylcarnitit, Tetradecenoyl-L-carnitine (C14:1), welches an 31. Stelle in Anhang 1 und 2 gelistet ist. Mit einer Hazard Ratio von 0,86 korreliert C14:1 negativ mit inzidentem DMT2.

Hierzu existieren zahlreiche kontradiktorische Ergebnisse in der Literatur. Beobachtet wurden erhöhte Konzentrationen C3- und C5-Acylcarnitine bei fettleibigen Teilnehmer:innen im Vergleich zur schlanken Kontrollgruppe, welche stark mit einer Insulinresistenz assoziiert wurden (Newgard et al. 2017). In einer weiteren Analyse wurden bei Diabetiker:innen und übergewichtigen Proband:innen primär eine vermehrte Akkumulation langkettiger Acylcarnitine, darunter auch C14:1, festgestellt (Mihalik et al. 2010). Eine sekundäre Anhäufung kürzerkettiger Acylcarnitine, C3-, C5- und C8- wurde zusätzlich bei Diabetiker:innen im Vergleich zur fettleibigen Kohorte festgestellt (Mihalik et al. 2010).

Im Gegensatz dazu erfasste eine Studie von Adams et al. bei T2-Diabetiker:innen im Vergleich zu übergewichtigen Frauen verminderte Plasmaspiegel von C3-CN und erhöhte Werte von C2-CN (Adams et al. 2009). In derselben Studie wurden bei T2-Diabetiker:innen im Vergleich zu nicht-Diabetiker:innen ein 300%iger Anstieg der Acylcarnitine C10-C14 konstatiert (Adams et al. 2009).

Neben den laut Mihalik et al. primär in der ersten Phase der β -Oxidation anfallenden langkettigen Acylcarnitinen wurden bei Diabetiker:innen zusätzlich vermehrt kürzerkettige Acylcarnitine festgestellt, was bei diesen Patient:innen einen allgemeinen Oxidationsdefekt suggerieren lässt (Mihalik et al. 2010). Als Ursache der dysregulierten Fettsäureoxidation wird hier ein mitochondriales Überangebot an Fettsäuren genannt, was wiederum die Akkumulation von Acylcarnitinen fördern könnte (Adams et al. 2009; Mihalik et al. 2010).

Diese, in Bezug auf unsere Studie widersprüchlichen, Ergebnisse können nicht eindeutig erklärt werden. Zu betonen ist die kleine Fallzahl der Studien. Die oben genannten Untersuchungen von Mihalik et al. bzw. Adams et al. beschreiben Kohorten von $n = 36$, respektive $n = 56$ Individuen (Mihalik et al. 2010; Adams et al. 2009). Demgegenüber steht unsere prospektive epidemiologische Studie mit einer Anzahl von $n = 9847$ Individuen, wodurch unsere Analyse sehr aussagekräftige Ergebnisse liefert. Final kann die klinische Relevanz von C14:1 CN aufgrund des unveränderten C-Index des Basismodells (0,815) nach Erweiterung um den Metabolit C14:1 CN (Anhang 2) allerdings als gering eingeschätzt werden.

4.5 Schlussfolgerung

In Conclusio ist zu sagen, dass sich unsere Ergebnisse weitestgehend mit früheren molekularen und epidemiologischen Studien vereinen lassen. Insgesamt ist die Bewertung des inkrementellen Nutzens für den klinischen Alltag zur Prädiktion und Prävention von Diabetes als fraglich anzusehen. Unsere Analysen ergaben zwar 59 signifikant mit Diabetes mellitus assoziierte Metabolite, jedoch verbesserte sich die Prädiktion kaum klinisch relevant jenseits eines Modells basierend auf den konventionellen Risikofaktoren. Das Metabolit-unabhängige Basismodell in unseren C-Statistiken hatte bereits einen hohen Diskriminierungswert, welcher im Vergleich zu Metabolomik vor allem in Anbetracht der Kosten und notwendigen Logistik der Metabolom-Analysen unschlagbar scheint. Exemplarisch sei an dieser Stelle der BMI genannt, mit einer HR von 1,98, einem P-Wert von $1,11 \times 10^{-69}$ und einem C-Index von 0.800. Metabolit-Bestimmungen sind mit einem hohen Kostenaufwand verbunden, welcher zum aktuellen Zeitpunkt, gemäß unserer Ergebnisse, noch nicht gerechtfertigt werden kann.

Beeindruckenderweise ist die Metabolitbestimmung über einen Nachverfolgungszeitraum von 20 Jahren prädiktiv für einen inzidenten DMT2 (Arany und Neinst 2018). Dies ist umso eindrucksvoller, als dass das Metabolom vielfältig von Umwelteinflüssen (z.B. Ernährung) beeinflusst wird (IDF 2019; Suttorp et al. 2020).

Ob das klinische Standardmodell der etablierten (Früherkennungs-)Diagnostik -die Bestimmung der Nüchtern glukose, der orale Glukosetoleranztest und die Messung des Glykohämoglobin HbA1c- in Zukunft um die Metabolit-Bestimmung erweitert wird, ist aufgrund der oben erwähnten limitierenden Faktoren zweifelhaft (Suttorp et al. 2020). Eine Implementation in die klinische Routine ist denkbar, allerdings scheinen die Effekte im Vergleich zu bereits etablierten und kosteneffizienteren Methoden zu gering. Unabhängig dessen bietet unsere Analyse evidente Ergebnisse zum besseren Verständnis der Pathophysiologie und den zentralen Mechanismen dieser Erkrankung.

5. Zusammenfassung

Diabetes mellitus ist eine chronische Stoffwechselerkrankung, welche in zwei Haupttypen, dem Diabetes mellitus Typ 1 und 2, eingeteilt wird (Suttorp et al. 2020). Beide Formen äußern sich phänotypisch in einer chronischen Hyperglykämie, was im Verlauf zu erheblichen Primär- und Sekundärkomplikationen führt (Baenkler et al. 2021; Arastéh et al. 2018). Unter den global 463 Millionen erwachsenen Diabetiker:innen, fallen 90-95 % auf den Typ-2-Diabetes zurück, dessen Inzidenz und Prävalenz global rasant zunimmt (IDF 2019; Ma et al. 2018). Diabetes mellitus zählt zu den häufigsten Todesursachen weltweit (WHO 2021) und stellt eine eklatante volkswirtschaftliche Belastung dar (IDF 2019). Um Prädiktion, Prävention und Therapie zu verbessern (Ma et al. 2018; Chen und Gerszten 2020), sollte in der vorliegenden prospektiven epidemiologischen Studie die Assoziation zirkulierender Metabolite mit dem Diabetesrisiko in der europäischen Population analysiert werden. Als Substudie innerhalb des EU-Konsortiums BiomarCaRE (**B**iomarkers for **C**ardiovascular **R**isk **A**ssesment in **E**urope) wurden Serumproben von 9847 Proband:innen mittels zielgerichteter Metabolomik auf 184 Metabolite analysiert und quantifiziert. Im Laufe des 20-jährigen Follow-ups erkrankten 1733 Individuen an DMT2. Nach Bonferroni-Korrektur für mehrfache Testung waren 59 Metabolite signifikant mit einem inzidenten DMT2 assoziiert. Unter diesen befanden sich Metabolite aus allen 5 analytischen Gruppen (Aminosäuren/biogene Amine, Acylcarnitine, Glycerophospholipide, Sphingolipide und Zucker). Eine positive Assoziation zu DMT2 wurde primär bei Aminosäuren und Hexosen festgestellt, demgegenüber korrelieren die restlichen analytischen Gruppen vornehmlich negativ mit dem Diabetesrisiko, waren also protektiv. Time-to-event-Assoziationen mit inzidentem Diabetes wurden berechnet, indem gewichtete und angepasste Cox-Proportional-Hazard-Modelle erstellt wurden. Des Weiteren wurden C-Indizes kalkuliert, um die Prädiktionsfähigkeit der Metabolite in Bezug auf Diabetes mellitus zu analysieren. Die quantifizierten Metabolite zeigen einen vergleichbaren Diskriminierungswert wie einzelne klassische Risikofaktoren. In der Kombination von Risikofaktoren und Metabolit ergaben v.a. die Hexosen eine signifikante Verbesserung des C-Index.

Dem bedeutenden Vorteil eines extendierten Früherkennungszeitraum von bis zu 20 Jahren durch Metabolom-Analysen (Arany und Neinast 2018) steht ein sehr kostenintensives Verfahren gegenüber, dessen Ergebnisse für die klinische Routine möglicherweise nicht signifikant genug sind, um den wirtschaftlichen Mehraufwand zu rechtfertigen. Inwiefern und ob Metabolom-Analysen zur Vorhersage eines DMT2 Einzug in den klinischen Alltag finden, bleibt deswegen abzuwarten.

6. English summary

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disease that is divided into two main types, diabetes mellitus type 1 and 2 (Suttorp et al. 2020). Both forms manifest phenotypically in chronic hyperglycemia, which leads to significant comorbidities (Baenkler et al. 2015; Arastéh et al. 2018). Among the globally 463 million adult diabetics, 90-95 % fall into type 2 diabetes, of which incidence and prevalence is rapidly increasing globally (IDF 2019; Ma et al. 2018). Diabetes mellitus is among the leading causes of death, the fastest growing medical challenge worldwide (WHO 2021) and represents a glaring economic burden (IDF 2019). In order to improve prediction, prevention, and treatment (Ma et al. 2018; Chen and Gerszten 2020), the present prospective epidemiological study aimed to analyze the association of circulating metabolites with the incident diabetes risk in the European population. As a sub-study within the EU consortium **BiomarCaRE (Biomarkers for Cardiovascular Risk Assessment in Europe)**, serum samples from 9847 subjects were analyzed and quantified for 184 metabolites using targeted metabolomics. During the 20-year follow-up, 1733 individuals developed incident DMT2. After Bonferroni-correction for multiple testing, 59 metabolites were significantly associated with DMT2. Among these were metabolites from all 5 analytical groups (amino acids/biogenic amines, acylcarnitines, glycerophospholipids, sphingolipids, and sugars). A positive association with DMT2 was found primarily for amino acids and hexoses, whereas the remaining analytical groups showed a negative association with diabetes risk. Time-to-event associations with incident diabetes were calculated by creating weighted and adjusted Cox proportional hazard models (Cavus et al. 2019). Furthermore, C-indices were calculated (Cavus et al. 2019), and yielded a comparable discriminatory value as classical risk factors. In the combination of risk factors and metabolite, hexoses resulted in a significant improvement of the C-index. The significant advantage of an extended screening period of up to 20 years ((Arany and Neinast 2018) by metabolomics is contrasted by a very cost-intensive procedure. The small incremental value when added to established risk factors may not yet be significant enough for the clinical routine to justify the additional economic effort. Therefore, whether metabolomics will be incorporated into clinical practice remains to be seen.

7. Anhang

7.1 Anhang 1: Alle 59 signifikanten Metabolite

Metabolite	Hazard Ratio pro SD (95 % KI)	P-Wert
H1	1.61 (1.55, 1.68)	1.90×10 ⁻¹¹⁰
acyl-alkyl-PC C34:3	0.72 (0.69, 0.76)	9.91×10 ⁻⁴⁰
acyl-alkyl-PC C34:2	0.78 (0.74, 0.82)	7.52×10 ⁻²⁵
Val	1.36 (1.29, 1.45)	2.18×10 ⁻²⁴
acyl-alkyl-PC C32:1	0.80 (0.76, 0.83)	6.12×10 ⁻²³
acyl-alkyl-PC C36:3	0.78 (0.74, 0.82)	6.40×10 ⁻²⁰
acyl-alkyl-PC C32:2	0.80 (0.76, 0.84)	6.16×10 ⁻¹⁹
SM (OH) C14:1	0.81 (0.77, 0.85)	2.83×10 ⁻¹⁸
acyl-alkyl-PC C44:6	0.80 (0.76, 0.84)	3.54×10 ⁻¹⁸
SM C16:1	0.90 (0.88, 0.92)	1.90×10 ⁻¹⁷
acyl-alkyl-PC C44:5	0.78 (0.73, 0.83)	4.14×10 ⁻¹⁶
acyl-alkyl-PC C40:6	0.80 (0.76, 0.84)	9.75×10 ⁻¹⁶
lysoPC a C18:2	0.80 (0.75, 0.84)	2.92×10 ⁻¹⁵
SM (OH) C16:1	0.83 (0.79, 0.87)	8.83×10 ⁻¹⁵
Gly	0.91 (0.89, 0.93)	7.30×10 ⁻¹⁴
Ile	1.45 (1.32, 1.60)	1.85×10 ⁻¹³
acyl-alkyl-PC C42:3	0.77 (0.71, 0.83)	4.00×10 ⁻¹²
diacyl-PC C28:1	0.84 (0.80, 0.88)	1.50×10 ⁻¹¹
acyl-alkyl-PC C36:2	0.79 (0.74, 0.85)	2.82×10 ⁻¹¹
diacyl-PC C42:0	0.82 (0.78, 0.87)	3.45×10 ⁻¹¹
acyl-alkyl-PC C44:4	0.83 (0.79, 0.88)	2.34×10 ⁻¹⁰
Glu	1.35 (1.23, 1.49)	1.34×10 ⁻⁹
Ala	1.24 (1.15, 1.33)	3.32×10 ⁻⁹
SM C18:1	0.86 (0.82, 0.91)	3.45×10 ⁻⁹
diacyl-PC C42:1	0.82 (0.77, 0.88)	4.93×10 ⁻⁹
acyl-alkyl-PC C42:4	0.81 (0.75, 0.87)	5.62×10 ⁻⁹

acyl-alkyl-PC C38:6	0.84 (0.80, 0.90)	1.87×10 ⁻⁸
acyl-alkyl-PC C34:1	0.86 (0.82, 0.91)	1.88×10 ⁻⁸
Phe	1.18 (1.11, 1.25)	2.14×10 ⁻⁸
acyl-alkyl-PC C42:2	0.81 (0.75, 0.87)	2.19×10 ⁻⁸
C14:1	0.86 (0.82, 0.91)	3.94×10 ⁻⁸
SM C16:0	0.91 (0.87, 0.94)	4.98×10 ⁻⁸
acyl-alkyl-PC C38:5	0.84 (0.78, 0.89)	5.40×10 ⁻⁸
acyl-alkyl-PC C42:5	0.85 (0.80, 0.90)	7.00×10 ⁻⁸
acyl-alkyl-PC C40:1	0.84 (0.79, 0.90)	9.85×10 ⁻⁸
diacyl-PC C36:0	0.82 (0.77, 0.88)	1.20×10 ⁻⁷
lysoPC a C17:0	0.84 (0.79, 0.90)	1.55×10 ⁻⁷
acyl-alkyl-PC C38:0	0.80 (0.74, 0.87)	1.82×10 ⁻⁷
acyl-alkyl-PC C38:4	0.87 (0.83, 0.92)	1.83×10 ⁻⁷
acyl-alkyl-PC C34:0	0.86 (0.82, 0.91)	2.31×10 ⁻⁷
Serotonin	0.87 (0.83, 0.92)	2.44×10 ⁻⁷
diacyl-PC C32:1	1.15 (1.09, 1.21)	3.69×10 ⁻⁷
acyl-alkyl-PC C36:5	0.85 (0.80, 0.91)	8.37×10 ⁻⁷
acyl-alkyl-PC C40:5	0.82 (0.75, 0.89)	9.62×10 ⁻⁷
lysoPC a C18:1	0.87 (0.82, 0.92)	9.68×10 ⁻⁷
diacyl-PC C38:0	0.87 (0.82, 0.92)	1.26×10 ⁻⁶
SM (OH) C24:1	0.90 (0.86, 0.94)	1.38×10 ⁻⁶
SM C26:1	0.91 (0.87, 0.95)	1.84×10 ⁻⁶
SDMA	0.89 (0.85, 0.93)	2.59×10 ⁻⁶
acyl-alkyl-PC C30:0	0.87 (0.83, 0.92)	3.00×10 ⁻⁶
diacyl-PC C42:2	0.83 (0.76, 0.90)	1.12×10 ⁻⁵
Taurine	0.94 (0.91, 0.96)	2.16×10 ⁻⁵
Leu	1.17 (1.08, 1.28)	1.59×10 ⁻⁴
SM (OH) C22:2	0.92 (0.89, 0.96)	1.71×10 ⁻⁴
SM C24:1	0.93 (0.89, 0.97)	2.18×10 ⁻⁴

acyl-alkyl-PC C36:1	0.84 (0.77, 0.92)	2.19×10 ⁻⁴
acyl-alkyl-PC C36:4	0.88 (0.83, 0.94)	2.30×10 ⁻⁴
acyl-alkyl-PC C44:3	0.85 (0.78, 0.93)	3.10×10 ⁻⁴
Thr	0.95 (0.92, 0.97)	3.21×10 ⁻⁴

Anhang 1: Eine Auflistung aller 59 signifikanten Metabolite nach Bonferroni-Korrektur als Erweiterung zu Tabelle 2; Hazard Ratios pro Standardabweichung und P-Werte sind angezeigt. Abkürzungen: Siehe Abkürzungsverzeichnis

7.2 Anhang 2: C-Indizes aller 59 signifikanten Metabolite inklusive Basismodell

	C-Index (95 % KI)	C-Index Differenzen (95 % KI)	P-Wert
Basismodell	0.815 (0.799, 0.831)		
Basismodell+ Val	0.820 (0.804, 0.837)	0.0057 (0.0023, 0.0092)	0.0010
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C32:1	0.817 (0.801, 0.833)	0.0021 (-0.0003, 0.0045)	81
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C32:2	0.817 (0.801, 0.834)	0.0027 (0.0005, 0.0049)	17
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C34:2	0.818 (0.802, 0.834)	0.0035 (0.0012, 0.0058)	0.0029
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C34:3	0.821 (0.805, 0.838)	0.0066 (0.0035, 0.0097)	<0.001
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C36:3	0.817 (0.801, 0.833)	0.0021 (-0.0002, 0.0045)	78
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C44:6	0.816 (0.800, 0.833)	0.0016 (-0.0007, 0.0039)	0.17
Basismodell+ SM (OH) C14:1	0.816 (0.800, 0.833)	0.0017 (-0.0005, 0.0039)	0.12
Basismodell+ SM C16:1	0.817 (0.800, 0.833)	0.0019 (0.0008, 0.0030)	<0.001
Basismodell+ H1	0.842 (0.826, 0.858)	0.0273 (0.0210, 0.0335)	<0.001
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C44:5	0.816 (0.800, 0.832)	0.0013 (-0.0009, 0.0034)	0.26
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C40:6	0.815 (0.799, 0.831)	0.0000 (-0.0020, 0.0020)	0.97
Basismodell+ lysoPC a C18:2	0.817 (0.801, 0.833)	0.0021 (-0.0001, 0.0043)	57
Basismodell+ SM (OH) C16:1	0.816 (0.800, 0.832)	0.0010 (-0.0010, 0.0030)	0.32
Basismodell+ Ile	0.818 (0.802, 0.834)	0.0034 (-0.0002, 0.0071)	67
Basismodell+ Gly	0.817 (0.801, 0.833)	0.0020 (0.0010, 0.0031)	<0.001
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C42:3	0.816 (0.799, 0.832)	0.0008 (-0.0010, 0.0027)	0.37
Basismodell+ diacyl-PC C28:1	0.815 (0.799, 0.831)	0.0004 (-0.0013, 0.0022)	0.64
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C36:2	0.816 (0.800, 0.832)	0.0010 (-0.0007, 0.0027)	0.25

Basismodell+ diacyl-PC C42:0	0.815 (0.799, 0.831)	0.0003 (-0.0014, 0.0021)	0.72
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C44:4	0.816 (0.800, 0.832)	0.0010 (-0.0007, 0.0027)	0.25
Basismodell+ Glu	0.815 (0.799, 0.831)	0.0005 (-0.0018, 0.0028)	0.68
Basismodell+ Ala	0.818 (0.802, 0.834)	0.0034 (0.0013, 0.0056)	0.0014
Basismodell+ SM C18:1	0.815 (0.799, 0.831)	0.0002 (-0.0013, 0.0018)	0.77
Basismodell+ diacyl-PC C42:1	0.816 (0.799, 0.832)	0.0008 (-0.0008, 0.0023)	0.35
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C42:4	0.815 (0.799, 0.831)	0.0003 (-0.0013, 0.0020)	0.68
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C38:6	0.815 (0.799, 0.831)	0.0000 (-0.0013, 0.0013)	0.98
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C34:1	0.815 (0.799, 0.831)	0.0001 (-0.0014, 0.0016)	0.87
Basismodell+ Phe	0.816 (0.799, 0.832)	0.0009 (-0.0009, 0.0027)	0.33
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C42:2	0.815 (0.799, 0.831)	0.0003 (-0.0012, 0.0017)	0.74
Basismodell+ C14:1	0.815 (0.799, 0.832)	0.0007 (-0.0009, 0.0023)	0.40
Basismodell+ SM C16:0	0.816 (0.799, 0.832)	0.0009 (-0.0003, 0.0022)	0.12
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C38:5	0.815 (0.799, 0.831)	0.0001 (-0.0012, 0.0013)	0.92
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C42:5	0.815 (0.799, 0.832)	0.0006 (-0.0009, 0.0021)	0.44
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C40:1	0.814 (0.798, 0.830)	-0.0007 (-0.0022, 0.0008)	0.35
Basismodell+ diacyl-PC C36:0	0.815 (0.799, 0.831)	0.0004 (-0.0010, 0.0018)	0.57
Basismodell+ lysoPC a C17:0	0.816 (0.799, 0.832)	0.0008 (-0.0007, 0.0023)	0.28
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C38:0	0.814 (0.797, 0.830)	-0.0011 (-0.0026, 0.0004)	0.16
Basismodell acyl-alkyl-PC C38:4	0.815 (0.798, 0.831)	-0.0001 (-0.0014, 0.0013)	0.93
Basismodell+ Serotonin	0.815 (0.798, 0.831)	-0.0002 (-0.0017, 0.0014)	0.85
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C34:0	0.814 (0.798, 0.831)	-0.0004 (-0.0019, 0.0011)	0.59
Basismodell+ diacyl-PC C32:1	0.817 (0.801, 0.833)	0.0020 (0.0004, 0.0035)	11
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C36:5	0.815 (0.799, 0.831)	0.0002 (-0.0010, 0.0014)	0.72
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C40:5	0.815 (0.799, 0.831)	0.0000 (-0.0013, 0.0014)	0.96
Basismodell+ lysoPC a C18:1	0.816 (0.799, 0.832)	0.0010 (-0.0004, 0.0023)	0.16
Basismodell+ diacyl-PC C38:0	0.815 (0.799, 0.831)	0.0002 (-0.0011, 0.0015)	0.80
Basismodell+ SM (OH) C24:1	0.816 (0.799, 0.832)	0.0009 (-0.0003, 0.0021)	0.13
Basismodell+ SM C26:1	0.816 (0.800, 0.832)	0.0011 (0.0001, 0.0021)	31

Basismodell+ SDMA	0.816 (0.800, 0.832)	0.0011 (-0.0002, 0.0025)	93
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C30:0	0.815 (0.798, 0.831)	0.0000 (-0.0014, 0.0013)	0.95
Basismodell+ diacyl-PC C42:2	0.815 (0.798, 0.831)	-0.0002 (-0.0014, 0.0010)	0.73
Basismodell+ Taurine	0.815 (0.799, 0.832)	0.0007 (0.0000, 0.0014)	58
Basismodell+ Leu	0.816 (0.800, 0.833)	0.0016 (0.0003, 0.0029)	15
Basismodell+ SM (OH) C22:2	0.816 (0.800, 0.832)	0.0010 (0.0001, 0.0019)	28
Basismodell+ SM C24:1	0.815 (0.799, 0.831)	0.0002 (-0.0008, 0.0011)	0.74
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C36:1	0.815 (0.799, 0.831)	0.0002 (-0.0008, 0.0012)	0.71
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C36:4	0.815 (0.799, 0.831)	0.0000 (-0.0009, 0.0009)	0.94
Basismodell+ acyl-alkyl-PC C44:3	0.815 (0.799, 0.831)	0.0000 (-0.0012, 0.0011)	0.96
Basismodell+ Thr	0.815 (0.799, 0.832)	0.0007 (0.0000, 0.0013)	45
Basismodell+ Gln	0.815 (0.799, 0.832)	0.0007 (-0.0002, 0.0015)	0.13
Basismodell+ Metabolitenpanel	0.822 (0.806, 0.839)	0.0076 (-0.0008, 0.0161)	77
Basismodell+ signifikante Metabolite	0.857 (0.841, 0.873)	0.0421 (0.0328, 0.0514)	<0.001
Val	0.757 (0.740, 0.773)	-0.0582 (-0.0715, -0.0449)	<0.001
acyl-alkyl-PC C32:1	0.742 (0.725, 0.758)	-0.0731 (-0.0859, -0.0603)	<0.001
acyl-alkyl-PC C32:2	0.739 (0.723, 0.756)	-0.0753 (-0.0881, -0.0625)	<0.001
acyl-alkyl-PC C34:2	0.753 (0.737, 0.769)	-0.0617 (-0.0738, -0.0496)	<0.001
acyl-alkyl-PC C34:3	0.762 (0.746, 0.778)	-0.0527 (-0.0648, -0.0406)	<0.001
acyl-alkyl-PC C36:3	0.748 (0.732, 0.764)	-0.0669 (-0.0792, -0.0546)	<0.001
acyl-alkyl-PC C44:6	0.745 (0.728, 0.761)	-0.0701 (-0.0825, -0.0576)	<0.001
SM (OH) C14:1	0.744 (0.727, 0.760)	-0.0712 (-0.0838, -0.0586)	<0.001
SM C16:1	0.735 (0.719, 0.751)	-0.0800 (-0.0929, -0.0670)	<0.001
H1	0.787 (0.771, 0.803)	-0.0277 (-0.0422, -0.0131)	<0.001
acyl-alkyl-PC C44:5	0.742 (0.726, 0.758)	-0.0730 (-0.0856, -0.0604)	<0.001
acyl-alkyl-PC C40:6	0.740 (0.724, 0.756)	-0.0748 (-0.0872, -0.0624)	<0.001
lysoPC a C18:2	0.743 (0.727, 0.759)	-0.0716 (-0.0844, -0.0588)	<0.001
SM (OH) C16:1	0.742 (0.726, 0.758)	-0.0730 (-0.0856, -0.0604)	<0.001
Ile	0.755 (0.738, 0.771)	-0.0600 (-0.0732, -0.0468)	<0.001

Gly	0.738 (0.722, 0.754)	-0.0769 (-0.0896, -0.0641)	<0.001
acyl-alkyl-PC C42:3	0.737 (0.721, 0.754)	-0.0773 (-0.0901, -0.0645)	<0.001
diacyl-PC C28:1	0.734 (0.718, 0.750)	-0.0809 (-0.0938, -0.0679)	<0.001
acyl-alkyl-PC C36:2	0.746 (0.729, 0.762)	-0.0691 (-0.0813, -0.0569)	<0.001
diacyl-PC C42:0	0.739 (0.723, 0.755)	-0.0755 (-0.0880, -0.0630)	<0.001
acyl-alkyl-PC C44:4	0.739 (0.723, 0.756)	-0.0754 (-0.0881, -0.0627)	<0.001
Glu	0.741 (0.725, 0.757)	-0.0738 (-0.0867, -0.0609)	<0.001
Ala	0.742 (0.726, 0.759)	-0.0724 (-0.0855, -0.0592)	<0.001
SM C18:1	0.733 (0.717, 0.749)	-0.0816 (-0.0946, -0.0685)	<0.001
diacyl-PC C42:1	0.736 (0.720, 0.752)	-0.0787 (-0.0915, -0.0660)	<0.001
acyl-alkyl-PC C42:4	0.736 (0.720, 0.753)	-0.0783 (-0.0911, -0.0655)	<0.001
acyl-alkyl-PC C38:6	0.732 (0.716, 0.749)	-0.0823 (-0.0951, -0.0695)	<0.001
acyl-alkyl-PC C34:1	0.738 (0.722, 0.754)	-0.0766 (-0.0892, -0.0641)	<0.001
Phe	0.738 (0.722, 0.754)	-0.0769 (-0.0899, -0.0639)	<0.001
acyl-alkyl-PC C42:2	0.734 (0.717, 0.750)	-0.0812 (-0.0941, -0.0683)	<0.001
C14:1	0.731 (0.715, 0.747)	-0.0840 (-0.0971, -0.0709)	<0.001
SM C16:0	0.735 (0.718, 0.751)	-0.0801 (-0.0930, -0.0672)	<0.001
acyl-alkyl-PC C38:5	0.732 (0.716, 0.749)	-0.0823 (-0.0951, -0.0695)	<0.001
acyl-alkyl-PC C42:5	0.735 (0.719, 0.751)	-0.0799 (-0.0927, -0.0672)	<0.001
acyl-alkyl-PC C40:1	0.733 (0.717, 0.749)	-0.0820 (-0.0949, -0.0692)	<0.001
diacyl-PC C36:0	0.734 (0.717, 0.750)	-0.0811 (-0.0941, -0.0681)	<0.001
lysoPC a C17:0	0.739 (0.723, 0.755)	-0.0755 (-0.0881, -0.0628)	<0.001
acyl-alkyl-PC C38:0	0.731 (0.715, 0.748)	-0.0833 (-0.0962, -0.0705)	<0.001
acyl-alkyl-PC C38:4	0.734 (0.718, 0.750)	-0.0805 (-0.0932, -0.0678)	<0.001
Serotonin	0.733 (0.717, 0.750)	-0.0814 (-0.0942, -0.0686)	<0.001
acyl-alkyl-PC C34:0	0.734 (0.718, 0.750)	-0.0805 (-0.0931, -0.0678)	<0.001
diacyl-PC C32:1	0.737 (0.721, 0.753)	-0.0780 (-0.0911, -0.0650)	<0.001
acyl-alkyl-PC C36:5	0.731 (0.715, 0.747)	-0.0836 (-0.0965, -0.0707)	<0.001
acyl-alkyl-PC C40:5	0.733 (0.717, 0.749)	-0.0815 (-0.0942, -0.0687)	<0.001

lysoPC a C18:1	0.736 (0.719, 0.752)	-0.0792 (-0.0920, -0.0664)	<0.001
diacyl-PC C38:0	0.733 (0.717, 0.750)	-0.0813 (-0.0941, -0.0685)	<0.001
SM (OH) C24:1	0.735 (0.718, 0.751)	-0.0802 (-0.0930, -0.0673)	<0.001
SM C26:1	0.732 (0.716, 0.748)	-0.0826 (-0.0955, -0.0696)	<0.001
SDMA	0.733 (0.717, 0.749)	-0.0817 (-0.0947, -0.0687)	<0.001
acyl-alkyl-PC C30:0	0.733 (0.717, 0.749)	-0.0815 (-0.0943, -0.0687)	<0.001
diacyl-PC C42:2	0.732 (0.716, 0.748)	-0.0828 (-0.0957, -0.0699)	<0.001
Taurine	0.732 (0.716, 0.748)	-0.0828 (-0.0958, -0.0698)	<0.001
Leu	0.741 (0.725, 0.758)	-0.0733 (-0.0860, -0.0605)	<0.001
SM (OH) C22:2	0.736 (0.719, 0.752)	-0.0792 (-0.0920, -0.0664)	<0.001
SM C24:1	0.731 (0.714, 0.747)	-0.0842 (-0.0972, -0.0712)	<0.001
acyl-alkyl-PC C36:1	0.736 (0.720, 0.753)	-0.0783 (-0.0909, -0.0656)	<0.001
acyl-alkyl-PC C36:4	0.731 (0.714, 0.747)	-0.0841 (-0.0970, -0.0712)	<0.001
acyl-alkyl-PC C44:3	0.731 (0.715, 0.747)	-0.0839 (-0.0968, -0.0710)	<0.001
Thr	0.731 (0.715, 0.747)	-0.0840 (-0.0969, -0.0710)	<0.001
Gln	0.736 (0.720, 0.752)	-0.0788 (-0.0916, -0.0659)	<0.001
BMI	0.800 (0.784, 0.816)	-0.0147 (-0.0204, -0.0088)	<0.001
Gesamtcholesterin	0.729 (0.713, 0.745)	-0.0860 (-0.0990, -0.0730)	<0.001
Systolischer Blutdruck	0.755 (0.739, 0.772)	-0.0594 (-0.0706, -0.0481)	<0.001
Tägliche Raucher	0.730 (0.714, 0.746)	-0.0845 (-0.0973, -0.0716)	<0.001
Untersuchungsalter	0.729 (0.713, 0.746)	-0.0853 (-0.0983, -0.0722)	<0.001
Männlich	0.738 (0.721, 0.754)	-0.0770 (-0.0894, -0.0646)	<0.001

Anhang 2: Eine Auflistung der C-Indizes aller 59 signifikanten Metabolite unter Verwendung der 20-Jahres-Wahrscheinlichkeit eines inzidenten Diabetes als Erweiterung von Tabelle 3. Es werden Vergleiche mit dem Basismodell angestellt. Die Unterschiede im C-Index werden in der Form angegeben: Modell mit Metaboliten C-Index [minus] Basismodell C-Index. Abkürzungen: siehe Abkürzungsverzeichnis

8. Abkürzungsverzeichnis

1	G
1st <i>First (erste)</i>	Glu <i>Glutamin</i> Glu/Gln <i>Glutamat-zu-Glutamin-Verhältnisse</i> Gly <i>Glycin</i>
2	H
2nd <i>Second (zweite)</i>	H1 <i>Hexosen</i> HDL <i>High Density Lipoprotein</i> HOMA-IR <i>Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance</i> HR <i>Hazard Ratio</i> HMDB <i>Human Metabolome Database</i>
3	I
3-HIB <i>3-Hydroxyisobutyrat</i> 3rd <i>Third (dritte)</i>	IDF <i>International Diabetes Federation</i> Ile <i>Isoleucin</i>
A	K
Acyl-Alkyl PC <i>acyl-alkyl Phosphatidylcholin</i> ADA <i>American Diabetes Association</i> Ala <i>Alanin</i> AA <i>Amino Acids</i>	KI <i>Konfidenzintervall</i>
B	L
BCAA <i>Branched-Chain Amino Acids</i> BCKA <i>Branched-chain Keto Acids</i> BD <i>Blutdruck</i> BP engl.: <i>Blood Pressure</i> ; deutsch: <i>Blutdruck</i> BiomarCaRE <i>Biomarker for Cardiovascular Risk Assessment across Europe</i> BMI <i>Body-Mass-Index; Gewicht in Kilogramm geteilt durch die Körpergröße bzw beziehungsweise</i>	LDL <i>Low Density Lipoprotein</i> Leu <i>Leucin</i> LysoPc <i>Lysophosphatidylcholin acyl</i>
C	M
C10 <i>Decanoyl-L-carnitine</i> C14 <i>Tetradecanoyl-L-carnitine</i> C14:1 <i>Tetradecenoyl-L-carnitine</i> C2 <i>Acetyl-L-carnitine</i> C5 <i>Valeryl-L-carnitine</i> C8 <i>Octanoyl-L-carnitine</i> ca. <i>circa</i> CEPT1 <i>Cholin/Ethanolamin-Phosphotransferase 1</i> CI engl.: <i>Confidence Interval</i> , deutsch: <i>Konfidenzintervall</i> CN <i>Acylcarnitine</i> CoA <i>Coenzym A</i>	MORGAM <i>Monica Risk, Genetics, Archiving and Monograph</i>
D	N
DDG <i>Deutschen Diabetes Gesellschaft</i> DIAB <i>Diabteisches Ereignis</i> DMT1 <i>Diabetes mellitus Typ 1</i> DMT2 <i>Diabetes mellitus Typ 2</i>	n <i>Anzahl</i> N at risk <i>Anzahl der Patienten die zu einem bestimmten Zeitpunkt noch leben</i> Nr. <i>Nummer</i> NRI <i>Net Reclassification Improvement</i>
E	O
EPIC <i>European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition</i> EU <i>Europäische Union</i>	oGTT <i>oraler Glukosetoleranztest</i>
	P
	PGC-1α <i>Peroxisome Proliferator-activated Receptor-gamma Coactivator 1 alpha</i> Phe <i>Phenylalanin</i>
	S
	SD engl.: <i>Standard Deviation</i> ; deutsch: <i>Standardabweichung</i> SDMA <i>Symmetrisches Dimethylarginin</i> SM <i>Sphingomyelin</i> SM (OH) <i>Hydroxysphingomyelin</i> SNPs <i>Single Nucleotide Polymorphisms</i>

T

Thr *Threonin*
T1 *Typ-1*
T2D *Typ-2-Diabetes*
T2 *Typ-2*

U

u.a. *unter anderem*

V

Val *Valin*
v.a. *vor allem*

Z

z.B. *zum Beispiel*

9. Literaturverzeichnis

- Acharjee, Satarupa, Bijaya Ghosh, Bandar E. Al-Dhubiab, and Anroop B. Nair.** 2013. "Understanding Type 1 Diabetes: Etiology and Models." *Canadian Journal of Diabetes* 37(4):269–76. doi: 10.1016/j.jcjd.2013.05.001.
- Adams, Sean H., Charles L. Hoppel, Kerry H. Lok, Ling Zhao, Scott W. Wong, Paul E. Minkler, Daniel H. Hwang, John W. Newman, and W. Timothy Garvey.** 2009. "Plasma Acylcarnitine Profiles Suggest Incomplete Long-Chain Fatty Acid β -Oxidation and Altered Tricarboxylic Acid Cycle Activity in Type 2 Diabetic African-American Women." *The Journal of Nutrition* 139(6):1073–81. doi: 10.3945/jn.108.103754.
- Adeva-Andany, M., G. Souto-Adeva, E. Ameneiros-Rodríguez, C. Fernández-Fernández, C. Donapetry-García, and A. Domínguez-Montero.** 2018. "Insulin Resistance and Glycine Metabolism in Humans." *Amino Acids* 50(1):11–27. doi: 10.1007/s00726-017-2508-0.
- Adeva-Andany, María M., Isabel Calvo-Castro, Carlos Fernández-Fernández, Cristóbal Donapetry-García, and Ana María Pedre-Piñeiro.** 2017. "Significance of L -Carnitine for Human Health: Significance of L -Carnitine for Human Health." *IUBMB Life* 69(8):578–94. doi: 10.1002/iub.1646.
- Al-Sulaiti, Haya, Ilhame Diboun, Maha V. Agha, Fatima F. S. Mohamed, Stephen Atkin, Alex S. Dömling, Mohamed A. Elrayess, and Nayef A. Mazloun.** 2019. "Metabolic Signature of Obesity-Associated Insulin Resistance and Type 2 Diabetes." *Journal of Translational Medicine* 17(1):348. doi: 10.1186/s12967-019-2096-8.
- Alva, M. L., A. Gray, B. Mihaylova, J. Leal, and R. R. Holman.** 2015. "The Impact of Diabetes-Related Complications on Healthcare Costs: New Results from the UKPDS (UKPDS 84)." *Diabetic Medicine* 32(4):459–66. doi: 10.1111/dme.12647.
- Alves, Anaïs, Arthur Bassot, Anne-Laure Bulteau, Luciano Pirola, and Béatrice Morio.** 2019. "Glycine Metabolism and Its Alterations in Obesity and Metabolic Diseases." *Nutrients* 11(6):1356. doi: 10.3390/nu11061356.
- American Diabetes Association.** 2015. "2. Classification and Diagnosis of Diabetes." *Diabetes Care* 38(Supplement_1): 8–16. doi: 10.2337/dc15-S005.
- American Diabetes Association.** 2020. "10. Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes—2020." *Diabetes Care* 43(Supplement 1): 111–34. doi: 10.2337/dc20-S010.
- Andraos, Stephanie, Melissa Wake, Richard Saffery, David Burgner, Martin Kussmann, and Justin O'Sullivan.** 2019. "Perspective: Advancing Understanding of Population Nutrient–Health Relations via Metabolomics and Precision Phenotypes." *Advances in Nutrition* 10(6):944–52. doi: 10.1093/advances/nmz045.
- Antolini, Laura, Byung-Ho Nam, and Ralph B. D'Agostino.** 2004. "Inference on Correlated Discrimination Measures in Survival Analysis: A Nonparametric Approach." *Communications in Statistics - Theory and Methods* 33(9):2117–35. doi: 10.1081/STA-200026579.
- Arany, Zoltan, and Michael Neinast.** 2018. "Branched Chain Amino Acids in Metabolic Disease." *Current Diabetes Reports* 18(10):76. doi: 10.1007/s11892-018-1048-7.

- Arastéh, Keikawus, Hanns-Wolf Baenkler, Christiane Bieber, Roland Brandt, Tushar Chatterjee, Thorsten Dill, and Bernd Löwe.** 2018. *Innere Medizin*. 4., überarbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme.
- Arneth, Borros, Rebekka Arneth, and Mohamed Shams.** 2019. "Metabolomics of Type 1 and Type 2 Diabetes." *International Journal of Molecular Sciences* 20(10):2467. doi: 10.3390/ijms20102467.
- Assmann, Gerd, and Helmut Schulte.** 1988. "The Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) Study: Prevalence of Hyperlipidemia in Persons with Hypertension and/or Diabetes Mellitus and the Relationship to Coronary Heart Disease." *American Heart Journal* 116(6):1713–24. doi: 10.1016/0002-8703(88)90220-7.
- Atkinson, Mark A., George S. Eisenbarth, and Aaron W. Michels.** 2014. "Type 1 Diabetes." *The Lancet* 383(9911):69–82. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60591-7.
- Baenkler, Hanns-Wolf, Robert Bals, Hartmut Goldschmidt, Johannes-Martin Hahn, Martin Hinterseer, Andreas Knez, Michael Lafrenz, and Michael Schmidt.** 2021. *Kurzlehrbuch Innere Medizin*. 4., vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag.
- Balcerczyk, Aneta, Christian Damblon, Bénédicte Elena-Herrmann, Baptiste Panthu, and Gilles J. P. Rautureau.** 2020. "Metabolomic Approaches to Study Chemical Exposure-Related Metabolism Alterations in Mammalian Cell Cultures." *International Journal of Molecular Sciences* 21(18):6843. doi: 10.3390/ijms21186843.
- Barber, Melissa N., Steve Risis, Christine Yang, Peter J. Meikle, Margaret Staples, Mark A. Febbraio, and Clinton R. Bruce.** 2012. "Plasma Lysophosphatidylcholine Levels Are Reduced in Obesity and Type 2 Diabetes" edited by H. Waki. *PLoS ONE* 7(7):e41456. doi: 10.1371/journal.pone.0041456.
- Binder, Elke, Francisco J. Bermúdez-Silva, Caroline André, Melissa Elie, Silvana Y. Romero-Zerbo, Thierry Leste-Lasserre, Ilaria Belluomo, Adeline Duchamp, Samantha Clark, Agnes Aubert, Marco Mezzullo, Flaminia Fanelli, Uberto Pagotto, Sophie Layé, Gilles Mithieux, and Daniela Cota.** 2013. "Leucine Supplementation Protects from Insulin Resistance by Regulating Adiposity Levels" edited by M. B. Aguila. *PLoS ONE* 8(9):e74705. doi: 10.1371/journal.pone.0074705.
- Bloomgarden, Zachary.** 2018. "Diabetes and Branched-Chain Amino Acids: What Is the Link?" *Journal of Diabetes* 10(5):350–52. doi: 10.1111/1753-0407.12645.
- Borkman, Mark, Leonard H. Storlien, David A. Pan, Arthur B. Jenkins, Donald J. Chisholm, and Lesley V. Campbell.** 1993. "The Relation between Insulin Sensitivity and the Fatty-Acid Composition of Skeletal-Muscle Phospholipids." *New England Journal of Medicine* 328(4):238–44. doi: 10.1056/NEJM199301283280404.
- Bundesministerium für Gesundheit.** n.d. *Diabetes Mellitus Typ 1 Und Typ 2*. Bundesministerium für Gesundheit. (Online im Internet.) URL: <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/gesundheitsgefahren/diabetes.html> (Stand: 15.09.2021, 13:54).
- Buuren, Stef van, and Karin Groothuis-Oudshoorn.** 2011. "Mice : Multivariate Imputation by Chained Equations in R." *Journal of Statistical Software* 45(3):1–67. doi: 10.18637/jss.v045.i03.

- Cavus, Ersin, Mahir Karakas, Francisco M. Ojeda, Jukka Kontto, Giovanni Veronesi, Marco Mario Ferrario, Allan Linneberg, Torben Jørgensen, Christa Meisinger, Barbara Thorand, Licia Iacoviello, Daniela Börnigen, Mark Woodward, Renate Schnabel, Simona Costanzo, Hugh Tunstall-Pedoe, Wolfgang Koenig, Kari Kuulasmaa, Veikko Salomaa, Stefan Blankenberg, Tanja Zeller, and for the BiomarcCaRE consortium.** 2019. "Association of Circulating Metabolites With Risk of Coronary Heart Disease in a European Population: Results From the Biomarkers for Cardiovascular Risk Assessment in Europe (BiomarcCaRE) Consortium." *JAMA Cardiology* 4(12):1270. doi: 10.1001/jamacardio.2019.4130.
- Chang, Wenguang, Grant M. Hatch, Yu Wang, Fei Yu, and Man Wang.** 2019. "The Relationship between Phospholipids and Insulin Resistance: From Clinical to Experimental Studies." *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 23(2):702–10. doi: 10.1111/jcmm.13984.
- Chatterjee, Sudesna, Kamlesh Khunti, and Melanie J. Davies.** 2017. "Type 2 Diabetes." *The Lancet* 389(10085):2239–51. doi: 10.1016/S0140-6736(17)30058-2.
- Chen, Zsu-Zsu, and Robert E. Gerszten.** 2020. "Metabolomics and Proteomics in Type 2 Diabetes." *Circulation Research* 126(11):1613–27. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.315898.
- Cheng, Long, Jingkang Wang, Hongyu Dai, Yuhui Duan, Yongcheng An, Lu Shi, Yinglan Lv, Huimin Li, Chen Wang, Quantao Ma, Yaqi Li, Pengfei Li, Haifeng Du, and Baosheng Zhao.** 2021. "Brown and Beige Adipose Tissue: A Novel Therapeutic Strategy for Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus." *Adipocyte* 10(1):48–65. doi: 10.1080/21623945.2020.1870060.
- Clore, John N., Paul A. Harris, Jing Li, Amin Azzam, Ranjodh Gill, Wilhelm Zuelzer, William B. Rizzo, and William G. Blackard.** 2000. "Changes in Phosphatidylcholine Fatty Acid Composition Are Associated with Altered Skeletal Muscle Insulin Responsiveness in Normal Man." *Metabolism* 49(2):232–38. doi: 10.1016/S0026-0495(00)91455-0.
- Deutscher Bundestag.** 2019. "Kosten der Behandlung von Diabetes Mellitus Typ 2" Sachstand, Wissenschaftliche Dienste.1–12. (Online im Internet.) URL: <https://www.bundestag.de/resource/blob/657242/98c8fa973471bb9d87fac74df66e3001/W-D-9-052-19-pdf-data.pdf> (Stand: 22.09.2021, 10:19)
- Dickson, Robert C.** 1998. "SPHINGOLIPID FUNCTIONS IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*: Comparison to Mammals." *Annual Review of Biochemistry* 67(1):27–48. doi: 10.1146/annurev.biochem.67.1.27.
- Fan, Jiahua, Songping Yin, Diaozhu Lin, Yangqing Liu, Nixuan Chen, Xinxu Bai, Qiuyi Ke, Jia Shen, Lili You, Xiuhong Lin, Feng Li, Fengyi He, Li Yan, Chaogang Chen, and Min Xia.** 2019. "Association of Serum Retinol-Binding Protein 4 Levels and the Risk of Incident Type 2 Diabetes in Subjects With Prediabetes." *Diabetes Care* 42(8):1574–81. doi: 10.2337/dc19-0265.
- Felig, Philip, Errol Marliss, and George F. Cahill.** 1969. "Plasma Amino Acid Levels and Insulin Secretion in Obesity." *New England Journal of Medicine* 281(15):811–16. doi: 10.1056/NEJM196910092811503.
- Felig, P., E. Marliss, J. L. Ohman, and C. F. Cahill.** 1970. "Plasma Amino Acid Levels in Diabetic Ketoacidosis." *Diabetes* 19(10):727–28. doi: 10.2337/diab.19.10.727.

- Fiehn, Oliver, W. Timothy Garvey, John W. Newman, Kerry H. Lok, Charles L. Hoppel, and Sean H. Adams.** 2010. "Plasma Metabolomic Profiles Reflective of Glucose Homeostasis in Non-Diabetic and Type 2 Diabetic Obese African-American Women" edited by J. M. Gimble. *PLoS ONE* 5(12):e15234. doi: 10.1371/journal.pone.0015234.
- Floegel, A., N. Stefan, Z. Yu, K. Muhlenbruch, D. Drogan, H. G. Joost, A. Fritsche, H. U. Haring, M. Hrabe de Angelis, A. Peters, M. Roden, C. Prehn, R. Wang-Sattler, T. Illig, M. B. Schulze, J. Adamski, H. Boeing, and T. Pischon.** 2013. "Identification of Serum Metabolites Associated With Risk of Type 2 Diabetes Using a Targeted Metabolomic Approach." *Diabetes* 62(2):639–48. doi: 10.2337/db12-0495.
- Funai, Katsuhiko, Irfan J. Lodhi, Larry D. Spears, Li Yin, Haowei Song, Samuel Klein, and Clay F. Semenkovich.** 2016. "Skeletal Muscle Phospholipid Metabolism Regulates Insulin Sensitivity and Contractile Function." *Diabetes* 65(2):358–70. doi: 10.2337/db15-0659.
- Gannon, Mary C., Jennifer A. Nuttall, and Frank Q. Nuttall.** 2002. "The Metabolic Response to Ingested Glycine." *The American Journal of Clinical Nutrition* 76(6):1302–7. doi: 10.1093/ajcn/76.6.1302.
- Gao, Xiaoyi, Joshua Starmer, and Eden R. Martin.** 2008. "A Multiple Testing Correction Method for Genetic Association Studies Using Correlated Single Nucleotide Polymorphisms." *Genetic Epidemiology* 32(4):361–69. doi: 10.1002/gepi.20310.
- Gar, C., M. Rottenkolber, C. Prehn, J. Adamski, J. Seissler, and A. Lechner.** 2018. "Serum and Plasma Amino Acids as Markers of Prediabetes, Insulin Resistance, and Incident Diabetes." *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 55(1):21–32. doi: 10.1080/10408363.2017.1414143.
- Geidenstam, Nina, Martin Magnusson, Anders P. H. Danielsson, Robert E. Gerszten, Thomas J. Wang, Lovisa E. Reinius, Hindrik Mulder, Olle Melander, and Martin Ridderstråle.** 2017. "Amino Acid Signatures to Evaluate the Beneficial Effects of Weight Loss." *International Journal of Endocrinology* 2017:1–12. doi: 10.1155/2017/6490473.
- Gerber, Philipp A., and Guy A. Rutter.** 2017. "The Role of Oxidative Stress and Hypoxia in Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes Mellitus." *Antioxidants & Redox Signaling* 26(10):501–18. doi: 10.1089/ars.2016.6755.
- Gibbs, Richard A.** 2020. "The Human Genome Project Changed Everything." *Nature Reviews Genetics* 21(10):575–76. doi: 10.1038/s41576-020-0275-3.
- Glynn, Erin L., Lucy W. Piner, Kim M. Huffman, Cris A. Slentz, Lorraine Elliot-Penry, Hiba AbouAssi, Phillip J. White, James R. Bain, Michael J. Muehlbauer, Olga R. Ilkayeva, Robert D. Stevens, Kathryn N. Porter Starr, Connie W. Bales, Elena Volpi, M. Julia Brosnan, Jeff K. Trimmer, Timothy P. Rolph, Christopher B. Newgard, and William E. Kraus.** 2015. "Impact of Combined Resistance and Aerobic Exercise Training on Branched-Chain Amino Acid Turnover, Glycine Metabolism and Insulin Sensitivity in Overweight Humans." *Diabetologia* 58(10):2324–35. doi: 10.1007/s00125-015-3705-6.
- Gonzalez-Franquesa, Alba, Alison M. Burkart, Elvira Isganaitis, and Mary-Elizabeth Patti.** 2016. "What Have Metabolomics Approaches Taught Us About Type 2 Diabetes?" *Current Diabetes Reports* 16(8):74. doi: 10.1007/s11892-016-0763-1.
- González-Ortiz, M., R. Medina-Santillán, E. Martínez-Abundis, and C. Reynoso von Drateln.** 2001. "Effect of Glycine on Insulin Secretion and Action in Healthy First-Degree Relatives of Type 2 Diabetes Mellitus Patients." *Hormone and Metabolic Research* 33(6):358–60. doi: 10.1055/s-2001-15421.

- Goodwin, Gregory.** 2019. "Type 1 Diabetes Mellitus and Celiac Disease: Distinct Autoimmune Disorders That Share Common Pathogenic Mechanisms." *Hormone Research in Paediatrics* 92(5):285–92. doi: 10.1159/000503142.
- Gralka, Ewa, Claudio Luchinat, Leonardo Tenori, Barbara Ernst, Martin Thurnheer, and Bernd Schultes.** 2015. "Metabolomic Fingerprint of Severe Obesity Is Dynamically Affected by Bariatric Surgery in a Procedure-Dependent Manner." *The American Journal of Clinical Nutrition* 102(6):1313–22. doi: 10.3945/ajcn.115.110536.
- Guasch-Ferré, Marta, Adela Hruby, Estefanía Toledo, Clary B. Clish, Miguel A. Martínez-González, Jordi Salas-Salvadó, and Frank B. Hu.** 2016. "Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Diabetes Care* 39(5):833–46. doi: 10.2337/dc15-2251.
- Guasch-Ferré, Marta, Miguel Ruiz-Canela, Jun Li, Yan Zheng, Mònica Bulló, Dong D. Wang, Estefanía Toledo, Clary Clish, Dolores Corella, Ramon Estruch, Emilio Ros, Montserrat Fitó, Fernando Arós, Miquel Fiol, José Lapetra, Lluís Serra-Majem, Liming Liang, Christopher Papandreou, Courtney Dennis, Miguel A. Martínez-González, Frank B. Hu, and Jordi Salas-Salvadó.** 2019. "Plasma Acylcarnitines and Risk of Type 2 Diabetes in a Mediterranean Population at High Cardiovascular Risk." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 104(5):1508–19. doi: 10.1210/jc.2018-01000.
- Güssregen, B.** 2019. "LC-MS." Pp. 1439–40 in *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik, Springer Reference Medizin*, edited by A. M. Gressner and T. Arndt. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Hall, John C.** 1998. "Review: Glycine." *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 22(6):393–98. doi: 10.1177/0148607198022006393.
- Hampel, Shahab-Ferdows, Hossain, Islam, Ahmed, and Allen.** 2019. "Validation and Application of Biocrates AbsoluteIDQ® P180 Targeted Metabolomics Kit Using Human Milk." *Nutrients* 11(8):1733. doi: 10.3390/nu11081733.
- Harreiter, Jürgen, and Michael Roden.** 2019. "Diabetes mellitus – Definition, Klassifikation, Diagnose, Screening und Prävention (Update 2019)." *Wiener klinische Wochenschrift* 131(S1):6–15. doi: 10.1007/s00508-019-1450-4.
- Harris, Lydia-Ann L. S., Gordon I. Smith, Bruce W. Patterson, Raja S. Ramaswamy, Adewole L. Okunade, Shannon C. Kelly, Lane C. Porter, Samuel Klein, Jun Yoshino, and Bettina Mittendorfer.** 2017. "Alterations in 3-Hydroxyisobutyrate and FGF21 Metabolism Are Associated With Protein Ingestion-Induced Insulin Resistance." *Diabetes* 66(7):1871–78. doi: 10.2337/db16-1475.
- Hämäläinen, Anu-Maaria, and Mikael Knip.** 2002. "Autoimmunity and Familial Risk of Type 1 Diabetes." *Current Diabetes Reports* 2(4):347–53. doi: 10.1007/s11892-002-0025-2.
- Heidemann, C., Y. Du, I. Schubert, W. Rathmann, and C. Scheidt-Nave.** 2013. "Prävalenz und zeitliche Entwicklung des bekannten Diabetes mellitus: Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1)." *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 56(5–6):668–77. doi: 10.1007/s00103-012-1662-5.
- Heidemann, Christin, and Christa Scheidt-Nave.** 2017. "Prävalenz, Inzidenz und Mortalität von Diabetes mellitus bei Erwachsenen in Deutschland." *Journal of Health Monitoring* 2(3):105–29. doi: 10.17886/RKI-GBE-2017-050.

- Hollywood, Katherine, Daniel R. Brison, and Royston Goodacre.** 2006. "Metabolomics: Current Technologies and Future Trends." *PROTEOMICS* 6(17):4716–23. doi: 10.1002/pmic.200600106.
- Inaishi, Jun, and Yoshifumi Saisho.** 2020. "Beta-Cell Mass in Obesity and Type 2 Diabetes, and Its Relation to Pancreas Fat: A Mini-Review." *Nutrients* 12(12):3846. doi: 10.3390/nu12123846.
- International Diabetes Federation.** 2019. *IDF Diabetes Atlas*. Brüssel, Belgien. (Online im Internet.) URL: <https://www.diabetesatlas.org> (Stand 08.09.2021, 11:35).
- Jang, Cholsoon, Sungwhan F. Oh, Shogo Wada, Glenn C. Rowe, Laura Liu, Mun Chun Chan, James Rhee, Atsushi Hoshino, Boa Kim, Ayon Ibrahim, Luisa G. Baca, Esl Kim, Chandra C. Ghosh, Samir M. Parikh, Aihua Jiang, Qingwei Chu, Daniel E. Forman, Stewart H. Lecker, Saikumari Krishnaiah, Joshua D. Rabinowitz, Aalim M. Weljie, Joseph A. Baur, Dennis L. Kasper, and Zoltan Arany.** 2016. "A Branched-Chain Amino Acid Metabolite Drives Vascular Fatty Acid Transport and Causes Insulin Resistance." *Nature Medicine* 22(4):421–26. doi: 10.1038/nm.4057.
- Jun, Goo, David Aguilar, Charles Evans, Charles F. Burant, and Craig L. Hanis.** 2020. "Metabolomic Profiles Associated with Subtypes of Prediabetes among Mexican Americans in Starr County, Texas, USA." *Diabetologia* 63(2):287–95. doi: 10.1007/s00125-019-05031-4.
- Kerner, W., J. Brückel, and B. O. Böhm.** 2004. "Evidenzbasierte Leitlinie DDG – Aktualisierung 10/2004 Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes Mellitus." 1–11. (Online im Internet.) URL: <http://web4health.info/de/aux/057-002.pdf> (Stand: 10.09.2021, 16:33).
- Klein, Matthias S., and Jane Shearer.** 2016. "Metabolomics and Type 2 Diabetes: Translating Basic Research into Clinical Application." *Journal of Diabetes Research* 2016:1–10. doi: 10.1155/2016/3898502.
- Koureas, Michalis, Dimitrios Kalompatsios, Grigoris D. Amoutzias, Christos Hadjichristodoulou, Konstantinos Gourgoulisanis, and Andreas Tsakalof.** 2021. "Comparison of Targeted and Untargeted Approaches in Breath Analysis for the Discrimination of Lung Cancer from Benign Pulmonary Diseases and Healthy Persons." *Molecules* 26(9):2609. doi: 10.3390/molecules26092609.
- Krebs, M., M. Krssak, E. Bernroider, C. Anderwald, A. Brehm, M. Meyerspeer, P. Nowotny, E. Roth, W. Waldhausl, and M. Roden.** 2002. "Mechanism of Amino Acid-Induced Skeletal Muscle Insulin Resistance in Humans." *Diabetes* 51(3):599–605. doi: 10.2337/diabetes.51.3.599.
- Kulathinal, Sangita, Juha Karvanen, Olli Saarela, Kari Kuulasmaa, and the MORGAM Project.** 2007. "Case-Cohort Design in Practice; Experiences from the MORGAM Project." *Epidemiologic Perspectives & Innovations* 4(1):15. doi: 10.1186/1742-5573-4-15.
- Kulling, Sabine.** o.d. *Metabolomics*. Max Rubner-Institut, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel Institut für Sicherheit und Qualität bei Obst und Gemüse: Max Rubner-Institut. (Online im Internet.) URL: <https://www.mri.bund.de/de/institute/sicherheit-und-qualitaet-bei-obst-und-gemuese/forschungsprojekte/metabolomics/> (Stand: 15.06.2021, 13:30).
- Kwak, Soo Heon, and Kyong Soo Park.** 2016. "Recent Progress in Genetic and Epigenetic Research on Type 2 Diabetes." *Experimental & Molecular Medicine* 48(3):e220–e220. doi: 10.1038/emm.2016.7.

- Li, Xiang, Xiaolei Wang, Rui Liu, Yan Ma, Huailan Guo, Liping Hao, Ping Yao, Liegang Liu, Xiufa Sun, Ka He, Wenhong Cao, and Xuefeng Yang.** 2013. "Chronic Leucine Supplementation Increases Body Weight and Insulin Sensitivity in Rats on High-Fat Diet Likely by Promoting Insulin Signaling in Insulin-Target Tissues." *Molecular Nutrition & Food Research* 57(6):1067–79. doi: 10.1002/mnfr.201200311.
- Lu, Jingyi, Guoxiang Xie, Weiping Jia, and Wei Jia.** 2013. "Insulin Resistance and the Metabolism of Branched-Chain Amino Acids." *Frontiers of Medicine* 7(1):53–59. doi: 10.1007/s11684-013-0255-5.
- Lynch, Christopher J., and Sean H. Adams.** 2014. "Branched-Chain Amino Acids in Metabolic Signalling and Insulin Resistance." *Nature Reviews Endocrinology* 10(12):723–36. doi: 10.1038/nrendo.2014.171.
- Ma, Quantao, Yaqi Li, Min Wang, Ziyang Tang, Ting Wang, Chenyue Liu, Chunguo Wang, and Baosheng Zhao.** 2018. "Progress in Metabonomics of Type 2 Diabetes Mellitus." *Molecules* 23(7):1834. doi: 10.3390/molecules23071834.
- Maahs, David M., Nancy A. West, Jean M. Lawrence, and Elizabeth J. Mayer-Davis.** 2010. "Epidemiology of Type 1 Diabetes." *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 39(3):481–97. doi: 10.1016/j.ecl.2010.05.011.
- Macotela, Yazmin, Brice Emanuelli, Anneli M. Bång, Daniel O. Espinoza, Jeremie Boucher, Kirk Beebe, Walter Gall, and C. Ronald Kahn.** 2011. "Dietary Leucine - An Environmental Modifier of Insulin Resistance Acting on Multiple Levels of Metabolism" edited by J. A. L. Calbet. *PLoS ONE* 6(6):e21187. doi: 10.1371/journal.pone.0021187.
- Mardinoglu, Adil, Silvia Gogg, Luca A. Lotta, Alena Stančáková, Annika Nerstedt, Jan Boren, Matthias Blüher, Ele Ferrannini, Claudia Langenberg, Nicholas J. Wareham, Markku Laakso, and Ulf Smith.** 2018. "Elevated Plasma Levels of 3-Hydroxyisobutyric Acid Are Associated With Incident Type 2 Diabetes." *EBioMedicine* 27:151–55. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.12.008.
- Meierhofer, David.** 2019. "Acylcarnitine Profiling by Low-Resolution LC-MS" edited by F. J. Schopfer. *PLOS ONE* 14(8):e0221342. doi: 10.1371/journal.pone.0221342.
- Menni, Cristina, Eric Fauman, Idil Erte, John R. B. Perry, Gabi Kastenmüller, So-Youn Shin, Ann-Kristin Petersen, Craig Hyde, Maria Psatha, Kirsten J. Ward, Wei Yuan, Mike Milburn, Colin N. A. Palmer, Timothy M. Frayling, Jeff Trimmer, Jordana T. Bell, Christian Gieger, Rob P. Mohny, Mary Julia Brosnan, Karsten Suhre, Nicole Soranzo, and Tim D. Spector.** 2013. "Biomarkers for Type 2 Diabetes and Impaired Fasting Glucose Using a Nontargeted Metabolomics Approach." *Diabetes* 62(12):4270–76. doi: 10.2337/db13-0570.
- Merino, Jordi, Miriam S. Udler, Aaron Leong, and James B. Meigs.** 2017. "A Decade of Genetic and Metabolomic Contributions to Type 2 Diabetes Risk Prediction." *Current Diabetes Reports* 17(12):135. doi: 10.1007/s11892-017-0958-0.
- Mihalik, Stephanie J., Bret H. Goodpaster, David E. Kelley, Donald H. Chace, Jerry Vockley, Frederico G. S. Toledo, and James P. DeLany.** 2010. "Increased Levels of Plasma Acylcarnitines in Obesity and Type 2 Diabetes and Identification of a Marker of Glucolipotoxicity." *Obesity* 18(9):1695–1700. doi: 10.1038/oby.2009.510.
- Muoio, Deborah M., and Christopher B. Newgard.** 2008. "Molecular and Metabolic Mechanisms of Insulin Resistance and β -Cell Failure in Type 2 Diabetes." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9(3):193–205. doi: 10.1038/nrm2327.

- Nagana Gowda, G., and Daniel Raftery.** 2013. "Biomarker Discovery and Translation in Metabolomics." *Current Metabolomics* 1(3):227–40. doi: 10.2174/2213235X113019990005.
- Nauck, Matthias, Christian Gerdes, Astrid Petersmann, Dirk Müller-Wieland, Ulrich A. Müller, Guido Freckmann, Lutz Heinemann, Erwin Schleicher, and Rüdiger Landgraf.** 2020. "Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus: Update 2020." *Diabetologie und Stoffwechsel* 15(S 01):9–17. doi: 10.1055/a-1193-3185.
- Newgard, Christopher B.** 2012. "Interplay between Lipids and Branched-Chain Amino Acids in Development of Insulin Resistance." *Cell Metabolism* 15(5):606–14. doi: 10.1016/j.cmet.2012.01.024.
- Newgard, Christopher B.** 2017. "Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand?" *Cell Metabolism* 25(1):43–56. doi: 10.1016/j.cmet.2016.09.018.
- Newgard, Christopher B., Jie An, James R. Bain, Michael J. Muehlbauer, Robert D. Stevens, Lillian F. Lien, Andrea M. Haqq, Svati H. Shah, Michelle Arlotto, Cris A. Slentz, James Rochon, Dianne Gallup, Olga Ilkayeva, Brett R. Wenner, William S. Yancy, Howard Eisenson, Gerald Musante, Richard S. Surwit, David S. Millington, Mark D. Butler, and Laura P. Svetkey.** 2009. "A Branched-Chain Amino Acid-Related Metabolic Signature That Differentiates Obese and Lean Humans and Contributes to Insulin Resistance." *Cell Metabolism* 9(4):311–26. doi: 10.1016/j.cmet.2009.02.002.
- Nilsen, Mona S., Regine Å. Jersin, Arve Ulvik, André Madsen, Adrian McCann, Per-Arne Svensson, Maria K. Svensson, Bjørn G. Nedrebø, Oddrun A. Gudbrandsen, Grethe S. Tell, C. R. Kahn, Per M. Ueland, Gunnar Mellgren, and Simon N. Dankel.** 2020. "3-Hydroxyisobutyrate, A Strong Marker of Insulin Resistance in Type 2 Diabetes and Obesity That Modulates White and Brown Adipocyte Metabolism." *Diabetes* 69(9):1903–16. doi: 10.2337/db19-1174.
- Norris, Jill M., Randi K. Johnson, and Lars C. Stene.** 2020. "Type 1 Diabetes—Early Life Origins and Changing Epidemiology." *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 8(3):226–38. doi: 10.1016/S2213-8587(19)30412-7.
- O'Connell, Thomas.** 2013. "The Complex Role of Branched Chain Amino Acids in Diabetes and Cancer." *Metabolites* 3(4):931–45. doi: 10.3390/metabo3040931.
- Okekunle, Akinkunmi Paul, Ying Li, Liyan Liu, Shanshan Du, Xiaoyan Wu, Yang Chen, Yanchuan Li, Jiayue Qi, Changhao Sun, and Rennan Feng.** 2017. "Abnormal Circulating Amino Acid Profiles in Multiple Metabolic Disorders." *Diabetes Research and Clinical Practice* 132:45–58. doi: 10.1016/j.diabres.2017.07.023.
- Paapstel, K., J. Kals, J. Eha, K. Tootsi, A. Ottas, A. Piir, M. Jakobson, J. Lieberg, and M. Zilmer.** 2018. "Inverse Relations of Serum Phosphatidylcholines and Lysophosphatidylcholines with Vascular Damage and Heart Rate in Patients with Atherosclerosis." *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 28(1):44–52. doi: 10.1016/j.numecd.2017.07.011.
- Palmer, Nicholette D., Robert D. Stevens, Peter A. Antinozzi, Andrea Anderson, Richard N. Bergman, Lynne E. Wagenknecht, Christopher B. Newgard, and Donald W. Bowden.** 2015. "Metabolomic Profile Associated With Insulin Resistance and Conversion to Diabetes in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100(3):E463–68. doi: 10.1210/jc.2014-2357.

- Patterson, Christopher C., Valma Harjutsalo, Joachim Rosenbauer, Andreas Neu, Ondrej Cinek, Torild Skrivarhaug, Birgit Rami-Merhar, Gyula Soltesz, Jannet Svensson, Roger C. Parslow, Conxa Castell, Eugen J. Schoenle, Polly J. Bingley, Gisela Dahlquist, Przemysława K. Jarosz-Chobot, Dalé Marčiulionytė, Edna F. Roche, Ulrike Rothe, Natasa Bratina, Constantin Ionescu-Tirgoviste, Ilse Weets, Mirjana Kocova, Valentino Cherubini, Natasa Rojnic Putarek, Carine E. deBeaufort, Mira Samardzic, and Anders Green.** 2019. "Trends and Cyclical Variation in the Incidence of Childhood Type 1 Diabetes in 26 European Centres in the 25 Year Period 1989–2013: A Multicentre Prospective Registration Study." *Diabetologia* 62(3):408–17. doi: 10.1007/s00125-018-4763-3.
- Pietiläinen, Kirsi H., Jussi Naukkarinen, Aila Rissanen, Juha Saharinen, Pekka Ellonen, Heli Keränen, Anu Suomalainen, Alexandra Götz, Tapani Suortti, Hannele Yki-Järvinen, Matej Orešič, Jaakko Kaprio, and Leena Peltonen.** 2008. "Global Transcript Profiles of Fat in Monozygotic Twins Discordant for BMI: Pathways behind Acquired Obesity" edited by L. C. Groop. *PLoS Medicine* 5(3):e51. doi: 10.1371/journal.pmed.0050051.
- Pietiläinen, Kirsi H., Marko Sysi-Aho, Aila Rissanen, Tuulikki Seppänen-Laakso, Hannele Yki-Järvinen, Jaakko Kaprio, and Matej Orešič.** 2007. "Acquired Obesity Is Associated with Changes in the Serum Lipidomic Profile Independent of Genetic Effects – A Monozygotic Twin Study" edited by A. Bartolomucci. *PLoS ONE* 2(2):e218. doi: 10.1371/journal.pone.0000218.
- Psychogios, Nikolaos, David D. Hau, Jun Peng, An Chi Guo, Rupasri Mandal, Souhaila Bouatra, Igor Sinelnikov, Ramanarayan Krishnamurthy, Roman Eisner, Bijaya Gautam, Nelson Young, Jianguo Xia, Craig Knox, Edison Dong, Paul Huang, Zsuzsanna Hollander, Theresa L. Pedersen, Steven R. Smith, Fiona Bamforth, Russ Greiner, Bruce McManus, John W. Newman, Theodore Goodfriend, and David S. Wishart.** 2011. "The Human Serum Metabolome" edited by D. Flower. *PLoS ONE* 6(2):e16957. doi: 10.1371/journal.pone.0016957.
- Razak, Meerza Abdul, Pathan Shajahan Begum, Buddolla Viswanath, and Senthilkumar Rajagopal.** 2017. "Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017:1–8. doi: 10.1155/2017/1716701.
- Renne, Mike F., and Anton I. P. M. de Kroon.** 2018. "The Role of Phospholipid Molecular Species in Determining the Physical Properties of Yeast Membranes." *FEBS Letters* 592(8):1330–45. doi: 10.1002/1873-3468.12944.
- Rinschen, Markus M., Julijana Ivanisevic, Martin Giera, and Gary Siuzdak.** 2019. "Identification of Bioactive Metabolites Using Activity Metabolomics." *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 20(6):353–67. doi: 10.1038/s41580-019-0108-4.
- Roberts, Lee D., Amanda L. Souza, Robert E. Gerszten, and Clary B. Clish.** 2012. "Targeted Metabolomics." *Current Protocols in Molecular Biology* 98(1). doi: 10.1002/0471142727.mb3002s98.
- Rosella, L. C., M. Lebenbaum, T. Fitzpatrick, D. O'Reilly, J. Wang, G. L. Booth, T. A. Stukel, and W. P. Wodchis.** 2016. "Impact of Diabetes on Healthcare Costs in a Population-Based Cohort: A Cost Analysis." *Diabetic Medicine* 33(3):395–403. doi: 10.1111/dme.12858.
- Scheithauer, Torsten P. M., Elena Rampanelli, Max Nieuwdorp, Bruce A. Vallance, C. Bruce Verchere, Daniël H. van Raalte, and Hilde Herrema.** 2020. "Gut Microbiota as a Trigger for Metabolic Inflammation in Obesity and Type 2 Diabetes." *Frontiers in Immunology* 11:571731. doi: 10.3389/fimmu.2020.571731.

- Sedlmeier, A., A. Kluttig, I. Giegling, C. Prehn, J. Adamski, G. Kastenmüller, and M. E. Lacruz.** 2018. "The Human Metabolic Profile Reflects Macro- and Micronutrient Intake Distinctly According to Fasting Time." *Scientific Reports* 8(1):12262. doi: 10.1038/s41598-018-30764-4.
- Semba, Richard D., Marta Gonzalez-Freire, Ruin Moaddel, Kai Sun, Elisa Fabbri, Pingbo Zhang, Olga D. Carlson, Mohammed Khadeer, Chee W. Chia, Norman Salem, and Luigi Ferrucci.** 2018. "Altered Plasma Amino Acids and Lipids Associated With Abnormal Glucose Metabolism and Insulin Resistance in Older Adults." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 103(9):3331–39. doi: 10.1210/jc.2018-00480.
- Steneberg, Pär, Nir Rubins, Reut Bartoov-Shifman, Michael D. Walker, and Helena Edlund.** 2005. "The FFA Receptor GPR40 Links Hyperinsulinemia, Hepatic Steatosis, and Impaired Glucose Homeostasis in Mouse." *Cell Metabolism* 1(4):245–58. doi: 10.1016/j.cmet.2005.03.007.
- Sunny, Nishanth E., Srilaxmi Kalavalapalli, Fernando Bril, Timothy J. Garrett, Manisha Nautiyal, Justin T. Mathew, Caroline M. Williams, and Kenneth Cusi.** 2015. "Cross-Talk between Branched-Chain Amino Acids and Hepatic Mitochondria Is Compromised in Nonalcoholic Fatty Liver Disease." *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 309(4):E311–19. doi: 10.1152/ajpendo.00161.2015.
- Suttorp, Norbert, Martin Möckel, Britta Siegmund, and Manfred Dietel.** 2020. *Harrisons innere Medizin. Register: Register*. Vol. 4. 20. Auflage, deutsche Ausgabe. New York: McGraw-Hill Education.
- Suvitaival, Tommi, Isabel Bondia-Pons, Laxman Yetukuri, Päivi Pöhö, John J. Nolan, Tuulia Hyötyläinen, Johanna Kuusisto, and Matej Orešič.** 2018. "Lipidome as a Predictive Tool in Progression to Type 2 Diabetes in Finnish Men." *Metabolism* 78:1–12. doi: 10.1016/j.metabol.2017.08.014.
- Tabák, Adam G., Christian Herder, Wolfgang Rathmann, Eric J. Brunner, and Mika Kivimäki.** 2012. "Prediabetes: A High-Risk State for Diabetes Development." *The Lancet* 379(9833):2279–90. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60283-9.
- Takashina, Chisa, Ichizo Tsujino, Taku Watanabe, Shinji Sakaue, Daisuke Ikeda, Asuka Yamada, Takahiro Sato, Hiroshi Ohira, Yoshinori Otsuka, Noriko Oyama-Manabe, Yoichi M. Ito, and Masaharu Nishimura.** 2016. "Associations among the Plasma Amino Acid Profile, Obesity, and Glucose Metabolism in Japanese Adults with Normal Glucose Tolerance." *Nutrition & Metabolism* 13(1):5. doi: 10.1186/s12986-015-0059-5.
- Temelkova-Kurktschiev, T., and T. Stefanov.** 2012. "Lifestyle and Genetics in Obesity and Type 2 Diabetes." *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes* 120(01):1–6. doi: 10.1055/s-0031-1285832.
- Tiffin, N.** 2006. "Computational Disease Gene Identification: A Concert of Methods Prioritizes Type 2 Diabetes and Obesity Candidate Genes." *Nucleic Acids Research* 34(10):3067–81. doi: 10.1093/nar/gkl381.
- Tulipani, Sara, Jules Griffin, Magali Palau-Rodriguez, Ximena Mora-Cubillos, Rosa M. Bernal-Lopez, Francisco J. Tinahones, Barbara E. Corkey, and Cristina Andres-Lacueva.** 2016. "Metabolomics-Guided Insights on Bariatric Surgery versus Behavioral Interventions for Weight Loss: Metabolomics of Bariatric Versus Dietary Weight Loss." *Obesity* 24(12):2451–66. doi: 10.1002/oby.21686.

- Tuomilehto, Jaakko, Jaana Lindström, Johan G. Eriksson, Timo T. Valle, Helena Hämäläinen, Pirjo Ilanne-Parikka, Sirkka Keinänen-Kiukaanniemi, Mauri Laakso, Anne Louheranta, Merja Rastas, Virpi Salminen, Sirkka Aunola, Zygimantas Cepaitis, Vladislav Moltchanov, Martti Hakumäki, Marjo Mannelin, Vesa Martikkala, Jouko Sundvall, and Matti Uusitupa.** 2001. "Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance." *New England Journal of Medicine* 344(18):1343–50. doi: 10.1056/NEJM200105033441801.
- Virtanen, Suvi M., and Mikael Knip.** 2003. "Nutritional Risk Predictors of β Cell Autoimmunity and Type 1 Diabetes at a Young Age." *The American Journal of Clinical Nutrition* 78(6):1053–67. doi: 10.1093/ajcn/78.6.1053.
- Wakita, Yoshihisa, Yumi Shimomura, Yusuke Kitada, Hiroyuki Yamamoto, Yoshiaki Ohashi, and Mitsuharu Matsumoto.** 2018. "Taxonomic Classification for Microbiome Analysis, Which Correlates Well with the Metabolite Milieu of the Gut." *BMC Microbiology* 18(1):188. doi: 10.1186/s12866-018-1311-8.
- Wallace, T. M., J. C. Levy, and D. R. Matthews.** 2004. "Use and Abuse of HOMA Modeling." *Diabetes Care* 27(6):1487–95. doi: 10.2337/diacare.27.6.1487.
- Wang, Jingjing, and Hongjun Wang.** 2017. "Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration." *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017:1–9. doi: 10.1155/2017/1930261.
- Wang, Thomas J., Martin G. Larson, Ramachandran S. Vasan, Susan Cheng, Eugene P. Rhee, Elizabeth McCabe, Gregory D. Lewis, Caroline S. Fox, Paul F. Jacques, Céline Fernandez, Christopher J. O'Donnell, Stephen A. Carr, Vamsi K. Mootha, Jose C. Florez, Amanda Souza, Olle Melander, Clary B. Clish, and Robert E. Gerszten.** 2011. "Metabolite Profiles and the Risk of Developing Diabetes." *Nature Medicine* 17(4):448–53. doi: 10.1038/nm.2307.
- WHO.** 2021. *Diabetes, Key Facts*. (Online im Internet.) URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (Stand: 08.09.2021, 18:34).
- Wishart, D. S., D. Tzur, C. Knox, R. Eisner, A. C. Guo, N. Young, D. Cheng, K. Jewell, D. Arndt, S. Sawhney, C. Fung, L. Nikolai, M. Lewis, M. A. Coutouly, I. Forsythe, P. Tang, S. Shrivastava, K. Jeroncic, P. Stothard, G. Amegbey, D. Block, David. D. Hau, J. Wagner, J. Miniaci, M. Clements, M. Gebremedhin, N. Guo, Y. Zhang, G. E. Duggan, G. D. MacInnis, A. M. Weljie, R. Dowlatabadi, F. Bamforth, D. Clive, R. Greiner, L. Li, T. Marrie, B. D. Sykes, H. J. Vogel, and L. Querengesser.** 2007. "HMDB: The Human Metabolome Database." *Nucleic Acids Research* 35(Database):D521–26. doi: 10.1093/nar/gkl923.
- Wishart, David S., Yannick Djoumbou Feunang, Ana Marcu, An Chi Guo, Kevin Liang, Rosa Vázquez-Fresno, Tanvir Sajed, Daniel Johnson, Carin Li, Naama Karu, Zinat Sayeeda, Elvis Lo, Nazanin Assempour, Mark Berjanskii, Sandeep Singhal, David Arndt, Yonjie Liang, Hasan Badran, Jason Grant, Arnau Serra-Cayuela, Yifeng Liu, Rupa Mandal, Vanessa Neveu, Allison Pon, Craig Knox, Michael Wilson, Claudine Manach, and Augustin Scalbert.** 2018. "HMDB 4.0: The Human Metabolome Database for 2018." *Nucleic Acids Research* 46(D1):D608–17. doi: 10.1093/nar/gkx1089.

- Wishart, David S., AnChi Guo, Eponine Oler, Fei Wang, Afia Anjum, Harrison Peters, Raynard Dizon, Zinat Sayeeda, Siyang Tian, Brian L. Lee, Mark Berjanskii, Robert Mah, Mai Yamamoto, Juan Jovel, Claudia Torres-Calzada, Mickel Hiebert-Giesbrecht, Vicki W. Lui, Dorna Varshavi, Dorsa Varshavi, Dana Allen, David Arndt, Nitya Khetarpal, Aadhavya Sivakumaran, Karxena Harford, Selena Sanford, Kristen Yee, Xuan Cao, Zachary Budinski, Jaanus Liigand, Lun Zhang, Jiamin Zheng, Rupasri Mandal, Naama Karu, Maija Dambrova, Helgi B. Schiöth, Russell Greiner, and Vasuk Gautam.** 2022. "HMDB 5.0: The Human Metabolome Database for 2022." *Nucleic Acids Research* 50(D1):D622–31. doi: 10.1093/nar/gkab1062.
- Wolahan, Stephanie M., Daniel Hirt, and Thomas C. Glenn.** 2015. "Translational Metabolomics of Head Injury: Exploring Dysfunctional Cerebral Metabolism with Ex Vivo NMR Spectroscopy-Based Metabolite Quantification." in *Brain Neurotrauma: Molecular, Neuropsychological, and Rehabilitation Aspects, Frontiers in Neuroengineering*, edited by F. H. Kobeissy. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis.
- Wu, Yanling, Yanping Ding, Yoshimasa Tanaka, and Wen Zhang.** 2014. "Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention." *International Journal of Medical Sciences* 11(11):1185–1200. doi: 10.7150/ijms.10001.
- Xu, Fengguo, Subramaniam Tavintharan, Chee Fang Sum, Kaing Woon, Su Chi Lim, and Choon Nam Ong.** 2013. "Metabolic Signature Shift in Type 2 Diabetes Mellitus Revealed by Mass Spectrometry-Based Metabolomics." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98(6):E1060–65. doi: 10.1210/jc.2012-4132.
- Yaribeygi, Habib, Farin Rashid Farrokhi, Alexandra E. Butler, and Amirhossein Sahebkar.** 2019. "Insulin Resistance: Review of the Underlying Molecular Mechanisms." *Journal of Cellular Physiology* 234(6):8152–61. doi: 10.1002/jcp.27603.
- Younsi, Mohamed, Didier Quilliot, Nehmann Al-Makdissy, Ir[egrave]ne Delbachian, Pierre Drouin, Mireille Donner, and Olivier Ziegler.** 2002. "Erythrocyte Membrane Phospholipid Composition Is Related to Hyperinsulinemia in Obese Nondiabetic Women: Effects of Weight Loss." *Metabolism* 51(10):1261–68. doi: 10.1053/meta.2002.35184.
- Zand, Ashkan, Karim Ibrahim, and Bhargavi Patham.** 2018. "Prediabetes: Why Should We Care?" *Methodist DeBakey Cardiovascular Journal* 14(4):289. doi: 10.14797/mdcj-14-4-289.
- Zeisel, Steven H., and Kerry-Ann da Costa.** 2009. "Choline: An Essential Nutrient for Public Health." *Nutrition Reviews* 67(11):615–23. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00246.x.
- Zeller, Tanja, Maria Hughes, Tarja Tuovinen, Arne Schillert, Annette Conrads-Frank, Hester den Ruijter, Renate B. Schnabel, Frank Kee, Veikko Salomaa, Uwe Siebert, Barbara Thorand, Andreas Ziegler, Heico Breek, Gerard Pasterkamp, Kari Kuulasmaa, Wolfgang Koenig, and Stefan Blankenberg.** 2014. "BiomarCaRE: Rationale and Design of the European BiomarCaRE Project Including 300,000 Participants from 13 European Countries." *European Journal of Epidemiology* 29(10):777–90. doi: 10.1007/s10654-014-9952-x.
- Zhao, Shuo, Xiao-Fei Feng, Ting Huang, Hui-Huan Luo, Jian-Xin Chen, Jia Zeng, Muyu Gu, Jing Li, Xiao-Yu Sun, Dan Sun, Xilin Yang, Zhong-Ze Fang, and Yun-Feng Cao.** 2020. "The Association Between Acylcarnitine Metabolites and Cardiovascular Disease in Chinese Patients With Type 2 Diabetes Mellitus." *Frontiers in Endocrinology* 11:212. doi: 10.3389/fendo.2020.00212.

Zhou, Meiyi, Jing Shao, Cheng-Yang Wu, Le Shu, Weibing Dong, Yunxia Liu, Mengping Chen, R. Max Wynn, Jiqiu Wang, Ji Wang, Wen-Jun Gui, Xiangbing Qi, Aldons J. Lusic, Zhaoping Li, Weiqing Wang, Guang Ning, Xia Yang, David T. Chuang, Yibin Wang, and Haipeng Sun. 2019. "Targeting BCAA Catabolism to Treat Obesity-Associated Insulin Resistance." *Diabetes* 68(9):1730–46. doi: 10.2337/db18-0927.

Ziegler, Anette-G., Maren Pflueger, Christiane Winkler, Peter Achenbach, Beena Akolkar, Jeffrey P. Krischer, and Ezio Bonifacio. 2011. "Accelerated Progression from Islet Autoimmunity to Diabetes Is Causing the Escalating Incidence of Type 1 Diabetes in Young Children." *Journal of Autoimmunity* 37(1):3–7. doi: 10.1016/j.jaut.2011.02.004.

10. Danksagung

An erster Stelle darf ich Herrn PD. Dr. Dr. Mahir Karakas, M.B.A., danken, welcher mir diese Dissertation ermöglicht hat und der für mich immer ein erreichbarer, wohlwollend offener und stets motivierender Ansprechpartner war.

Ebenso gilt mein Dank Prof. Dr. Tanja Zeller für die zielgerichtete und konzentrierte wissenschaftliche Betreuung.

Ein besonderer Dank gilt auch meiner Familie und meinen Freunden, die mir stets beiseite gestanden haben. Zudem danke ich allen weiteren Personen, die mich im Rahmen der Dissertation begleitet und moralisch unterstützt haben.

11. Lebenslauf

-Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: