

Aus dem Deutschen Diabetes-Zentrum
Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung
an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Institut für klinische Diabetologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Michael Roden

**Der Einfluss von zwei unterschiedlichen Ernährungsmodifikationen
auf die Insulinsekretion bei Typ 2 Diabetes**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae
der Medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität
Düsseldorf

vorgelegt von

Ann Kristin Fleitmann

2016

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Michael Roden

Zweitgutachterin: Univ.-Prof. Dr. med. Regina Ensenaer

Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Nowotny B, Zahiragic L, Bierwagen A, Kabisch S, Groener JB, Nowotny PJ, Fleitmann AK, Herder C, Pacini G, Erlund I, Landberg R, Haering HU, Pfeiffer AF, Nawroth PP, Roden M. Low-energy diets differing in fibre, red meat and coffee intake equally improve insulin sensitivity in type 2 diabetes: a randomised feasibility trial. *Diabetologia*. 2015; 58 (2): 255-264

Zusammenfassung

Ein relativer Insulinmangel infolge Betazellfunktionsstörung oder Betazellverlust trägt entscheidend zur Entstehung des Typ 2 Diabetes (T2DM) bei, da Hyperglykämie und Glukoseintoleranz bei Patienten mit Insulinresistenz erst auftreten, wenn Insulin nach einem Glukosestimulus nicht mehr adäquat sezerniert wird. Menschen, die regelmäßig Ballaststoffe aus Vollkorngetreide zu sich nehmen, haben ein geringeres Risiko für T2DM. Tägliches Trinken mehrerer Tassen Kaffee erwies sich ebenfalls als erfolgreich in der Diabetesprävention. Andererseits haben Menschen, die regelmäßig rotes Fleisch essen, ein höheres Risiko für T2DM. Die vorliegende Arbeit testete die Hypothese, dass eine achtwöchige, nur moderat kalorienreduzierte Ernährungsmodifikation mit Vollkornprodukten, Kaffee und Verzicht auf rotes Fleisch die Insulinsekretion bei übergewichtigen Patienten mit T2DM verbessert.

37 Probanden mit metabolisch gut eingestelltem T2DM und einem BMI ≥ 30 kg/m² nahmen für acht Wochen an einer randomisierten, kontrollierten Studie teil, die den Effekt einer moderat kalorienreduzierten (-300 kcal pro Tag) Ernährungsintervention bei einer festgelegten Verteilung der Makronährstoffe (50% Kohlenhydrate, 30% Fett, 20% Eiweiß) untersuchte. Eine Gruppe nahm täglich Vollkornprodukte (30-50 g Getreide-Ballaststoffe) und Kaffee (≥ 5 Tassen) zu sich, aber kein rotes Fleisch (L-RISK, „*low risk*“, „niedriges Risiko“). Die Vergleichsgruppe erhöhte den täglichen Verzehr von rotem Fleisch (≥ 150 g) und verzichtete auf Kaffee und Vollkornprodukte (H-RISK, „*high risk*“, „hohes Risiko“). Vor und nach der Diät wurden ein *Mixed-Meal Tolerance Test* (MMTT), ein intravenöser Glukosetoleranztest (IVGTT) und ein Glukagonstimulationstest (GST) zur Beurteilung der Insulinsekretion durchgeführt.

In der L-RISK Gruppe nahmen die Nüchternkonzentrationen von Insulin (-32%), C-Peptid (-30%) und Glukose (-10%) ab. In der H-RISK Gruppe nahmen die Nüchternkonzentrationen von Insulin (-28%) und C-Peptid (-26%) ab. Im MMTT nahm die inkrementelle Fläche unter der Kurve (*incremental area under the curve*, iAUC) der Glukosekonzentrationen in der H-RISK Gruppe ab (-20%). Die iAUC der Konzentrationen von Insulin, C-Peptid und *Glucagon-like-peptid-1* (GLP-1) blieb in beiden Gruppen unverändert. Die iAUC der *gastric inhibitory peptide* (GIP) -Spiegel nahm in der L-RISK Gruppe zu (+20%). Der insulinogene Index (IGI), das *homeostasis model assessment* der Betazellfunktion (HOMA-B) und die *oral glucose sensitivity* (OGIS) änderten sich in beiden Gruppen nicht. Der Insulinsensitivitätsindex (ISIcomp) nahm in Gruppe L-RISK (+29%) und H-RISK (+39%) zu. Der Dispositionsindex (DI) verdoppelte sich im IVGTT in der L-RISK Gruppe.

Beide Ernährungsmodifikationen verbesserten die Nüchternkonzentrationen von Insulin und C-Peptid bei übergewichtigen Patienten mit T2DM. Nur die auf Vollkornprodukten, Kaffee und dem Verzicht auf rotes Fleisch basierende Ernährungsmodifikation steigerte die glukoseinduzierte Insulinsekretion bezogen auf das Ausmaß der Insulinresistenz. Andererseits senkte nur die auf rotem Fleisch und dem Verzicht auf Vollkornprodukte und Kaffee basierende Ernährungsmodifikation die Glukosespiegel während eines Mahlzeitentests. Daher ist für keine der beiden Ernährungsmodifikationen eine eindeutige Verbesserung der Insulinsekretion nachweisbar.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Zusammenfassung..... | I |
| Inhaltsverzeichnis..... | III |
| Tabellenverzeichnis..... | V |
| Abbildungsverzeichnis..... | VII |
| Abkürzungsverzeichnis..... | IX |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 1.1 Klassifikation des Diabetes mellitus..... | 1 |
| 1.2 Diagnosekriterien des Diabetes mellitus..... | 1 |
| 1.3 Epidemiologie des Diabetes mellitus..... | 2 |
| 1.4 Physiologie der Betazelle..... | 3 |
| 1.4.1 Rolle der Betazelle in der Blutglukoseregulation..... | 3 |
| 1.4.2 Molekulare Mechanismen der Insulinsekretion..... | 4 |
| 1.4.3 Pulsatilität der Insulinsekretion..... | 6 |
| 1.4.4 Inkretineffekt auf die Betazelle..... | 7 |
| 1.5 Bestimmung der Betazellfunktion in vivo..... | 9 |
| 1.5.1 Nüchtern-Insulinkonzentrationen..... | 10 |
| 1.5.2 Oraler Glukosetoleranztest..... | 10 |
| 1.5.3 Intravenöser Glukosetoleranztest..... | 11 |
| 1.5.4 <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> | 12 |
| 1.5.5 Glukagonstimulationstest..... | 12 |
| 1.6 Pathophysiologie des Typ 2 Diabetes..... | 13 |
| 1.6.1 Insulinresistenz..... | 13 |
| 1.6.2 Insulinsekretionsstörung und Betazellverlust..... | 14 |
| 1.6.3 Glukose- und Lipotoxizität..... | 16 |
| 1.7 Rolle der Ernährung in der Prävention und Therapie bei Typ 2 Diabetes..... | 19 |
| 1.7.1 Vollkorn..... | 19 |
| 1.7.2 Kaffee..... | 22 |
| 1.7.3 Rotes Fleisch..... | 24 |
| 2 Ziele der Arbeit..... | 25 |
| 3 Patienten, Materialien und Methoden..... | 26 |
| 3.1 Materialien..... | 26 |
| 3.1.1 Infusionslösungen und Arzneimittel..... | 26 |

| | |
|--|----|
| 3.1.2 Verbrauchsmaterialien..... | 26 |
| 3.1.3 Geräte..... | 30 |
| 3.2 Methoden..... | 31 |
| 3.2.1 Studiendesign..... | 31 |
| 3.2.2 Rekrutierung und Patientenkollektiv..... | 31 |
| 3.2.3 Studienintervention und Studienablauf..... | 33 |
| 3.2.4 Durchführung der Betazellfunktionstests..... | 35 |
| 3.2.4.1 Mixed-Meal Tolerance Test..... | 35 |
| 3.2.4.2 Intravenöser Glukosetoleranztest..... | 36 |
| 3.2.4.3 Glukagonstimulationstest..... | 36 |
| 3.2.5 Laborbestimmungen..... | 37 |
| 3.2.6 Berechnungen..... | 38 |
| 3.2.7 Statistische Auswertung..... | 40 |
| 4 Ergebnisse..... | 41 |
| 4.1 Rekrutierung der Patienten..... | 41 |
| 4.2 Anthropometrie der Gruppen H-RISK und L-RISK..... | 42 |
| 4.3 Ernährungsintervention und Gewichtsabnahme in den Gruppen H-RISK und L-RISK..... | 43 |
| 4.4 Insulinsekretion und Betazellfunktion im <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> | 44 |
| 4.5 Insulinsekretion und Betazellfunktion im intravenösen Glukosetoleranztest..... | 47 |
| 4.6 Insulinsekretion und Betazellfunktion im Glukagonstimulationstest..... | 48 |
| 5 Diskussion..... | 49 |
| 5.1 Effekte der Ernährungsmodifikationen im <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> | 49 |
| 5.2 Effekte der Ernährungsmodifikationen im intravenösen Glukosetoleranztest..... | 51 |
| 5.3 Effekte der Ernährungsmodifikationen im Glukagonstimulationstest..... | 52 |
| 5.4 Einfluss von Kalorienrestriktion und Verteilung der Makronährstoffe..... | 53 |
| 5.5 Schlussfolgerungen..... | 54 |
| 6 Literaturverzeichnis..... | 56 |
| 7 Anlagen..... | 72 |
| Danksagungen | |
| Eidesstattliche Versicherung | |

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1. Klassifikation des Diabetes mellitus..... | 1 |
| Tabelle 2. Diagnosekriterien des Diabetes mellitus..... | 2 |
| Tabelle 3. Inhaltsstoffe im Kaffee mit Wirkung auf Insulinsekretion und Insulinsensitivität..... | 23 |
| Tabelle 4. Ein- und Ausschlusskriterien | 32 |
| Tabelle 5. Blutabnahme zur Bestimmung der Screening-Laborparameter..... | 33 |
| Tabelle 6. Blutabnahmeprotokoll im <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> | 36 |
| Tabelle 7. Blutabnahmeprotokoll im intravenösen Glukosetoleranztest..... | 36 |
| Tabelle 8. Anthropometrie und Laborparameter | 42 |
| Tabelle 9. Aufnahme von Kalorien, Kohlenhydraten, Fett, Eiweiß, Getreide-Ballaststoffen und rotem Fleisch vor Studienbeginn..... | 43 |
| Tabelle 10. Änderungen der Aufnahme von Kalorien und Makronährstoffen vor der Intervention..... | 43 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abb.1: Molekulare Mechanismen der Insulinsekretion..... | 5 |
| Abb. 2: Biphasische Insulinsekretion nach Glukosebelastung beim gesunden Menschen..... | 7 |
| Abb. 3: Molekulare Wirkungen von GLP-1 auf die Insulinsekretion..... | 9 |
| Abb. 4: Hyperglykämie als Ursache für einen Defekt in der Genexpression von Insulin..... | 16 |
| Abb. 5: Hyperlipidämie als Ursache für eine Abnahme der Insulinsekretion..... | 17 |
| Abb. 6: Entstehung langkettiger aktivierter Fettsäuren in der Betazelle bei Hyperglykämie und Hyperlipidämie..... | 18 |
| Abb. 7: Rekrutierung der Patienten..... | 41 |
| Abb. 8: Nüchtern-Glukosekonzentrationen vor und nach der Intervention in H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 44 |
| Abb. 9: Nüchtern-Insulinkonzentrationen vor und nach der Intervention in H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 44 |
| Abb. 10: Nüchtern-C-Peptidkonzentrationen vor und nach der Intervention in H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 44 |
| Abb. 11: Inkrementelle Fläche unter der Glukosekurve aus dem <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 45 |
| Abb. 12: Inkrementelle Fläche unter der Insulinkurve aus dem <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 45 |
| Abb. 13: Inkrementelle Fläche unter der C-Peptidkurve aus dem <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 45 |
| Abb. 14: Inkrementelle Fläche unter der GIP-Kurve vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=16)..... | 46 |
| Abb. 15: Inkrementelle Fläche unter der GLP-1-Kurve vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=16)..... | 46 |
| Abb. 16: <i>Insulinogenic Index</i> (IGI) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=16) | 46 |
| Abb. 17: <i>Oral glucose insulin sensitivity</i> (OGIS) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 46 |
| Abb. 18: <i>Homeostasis model assessment</i> der Betazellfunktion (HOMA-B) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=20) und L-RISK (n=18)..... | 47 |
| Abb. 19: Insulinsensitivitätsindex (ISIcomp) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17)..... | 47 |

VIII

| | |
|---|----|
| Abb. 20: Inkrementelle Fläche unter der Insulinkurve im intravenösen Glukosetoleranztest vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=15)..... | 47 |
| Abb. 21: Inkrementelle Fläche unter der C-Peptidkurve im intravenösen Glukosetoleranztest vor und nach der Intervention für H-RISK (n=17) und L-RISK (n=16)..... | 47 |
| Abb. 22: <i>Acute insulin response</i> (AIR) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=15)..... | 48 |
| Abb. 23: <i>Disposition Index</i> (DI) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=15)..... | 48 |
| Abb. 24: Differenz der Insulinkonzentrationen zu Minute 6 und 0 vor und nach der Intervention für H-RISK (n=15) und L-RISK (n=13)..... | 48 |
| Abb. 25: Differenz der C-Peptidkonzentrationen zu Minute 6 und 0 vor und nach der Intervention für H-RISK (n=17) und L-RISK (n=15)..... | 48 |

Abkürzungsverzeichnis

| | | | |
|--------------|--|----------------------|--|
| AC | Adenylatcyclase | GLP-1 | <i>Glucagon-like Peptide-1</i> |
| ACOD | Acyl-CoA-Oxidase | GLUT2 | Glukosetransporter 2 |
| ACS | Acyl-CoA-Synthetase | G_s | Stimulierendes G-Protein |
| ADA | <i>American Diabetes Association</i> (Amerikanische Diabetes Gesellschaft) | GST | Glukagonstimulationstest |
| AIR | <i>Acute insulin response</i> (akute Insulinantwort) | G6PD | Glukose-6-Phosphat- Dehydrogenase |
| AK | Antikörper | HbA1c | Glykiertes Hämoglobin, Subfraktion A1c |
| ALT | Alanin-Aminotransferase | HDL | <i>High density lipoprotein</i> |
| AST | Aspartat-Aminotransferase | H-RISK | <i>High risk</i> (hohes Risiko) |
| ATP | Adenosintriphosphat | iAUC | <i>Incremental area under the curve</i> (inkrementelle Fläche unter der Kurve) |
| AUC | <i>Area under the curve</i> (Fläche unter der Kurve) | IDX-1 | <i>Islet duodenal homeobox-1</i> |
| BMI | <i>Body mass index</i> | IFG | <i>Impaired fasting glucose</i> (abnorme Nüchtern glukose) |
| cAMP | Cyclisches Adenosinmonophosphat | IGI | Insulinogener Index |
| DDG | Deutsche Diabetes Gesellschaft | IGT | <i>Impaired glucose tolerance</i> (gestörte Glukosetoleranz) |
| DDIET | <i>Diabetes-Diet-Intervention and</i> <i>Energy Restriction Trial</i> (Diabetes- Diät-Interventions- und Energierestriktions-Testung) | IPAQ | <i>International physical activity</i> <i>questionnaire</i> |
| DI | Dispositionsindex | IRS-1 | Insulinrezeptorsubstrat-1 |
| DifE | Deutsches Institut für Ernährung | IRS-2 | Insulinrezeptorsubstrat-2 |
| EDTA | Ethylendiamintetraacetat | ISI | Insulinsensitivitätsindex |
| ELISA | <i>Enzyme Linked Immunosorbent</i> <i>Assay</i> | IVGTT | Intravenöser Glukosetoleranztest |
| Epac2 | <i>Exchange protein directly</i> <i>activated by cAMP 2</i> | HOMA-B | <i>Homeostasis Model Assessment</i> der Betazellfunktion |
| ER | Endoplasmatisches Retikulum | Kir6.2 | Porenbildende Untereinheit des K ⁺ _{ATP} -Kanals |
| FFS | Freie Fettsäuren | LC-COA | <i>Long-chain Acyl-CoA</i> (aktivierte langkettige Fettsäuren) |
| GIP | <i>Gastric inhibitory peptide</i> | LDL | <i>Low density lipoprotein</i> |

| | | | |
|---------------|--|--------------|---|
| L-RISK | <i>Low risk</i> (niedriges Risiko) | OGIS | <i>Oral glucose insulin sensitivity</i> |
| MafA | <i>Musculoaponeurotic fibrosarcoma protein A</i> | OGTT | Oraler Glukosetoleranztest |
| MMTT | <i>Mixed-Meal Tolerance Test</i> | RIA | <i>Radioimmunoassay</i> |
| NADPH | Nicotinamidadenindinucleotid-phosphat | ROS | <i>Reactive oxygen species</i> (reaktive Sauerstoffverbindungen) |
| NGT | Normale Glukosetoleranz | SUR1 | <i>Sulfonylurea receptor 1</i> (Sulfonylharnstoffrezeptor vom Typ 1) |
| NSAR | Nicht-steroidale Antirheumatika | TAG | Triacylglyzeride |
| PDH | Pyruvat-Dehydrogenase | T1DM | Typ 1 Diabetes mellitus |
| PDX-1 | <i>Pancreatic duodenal homeobox-1</i> | T2DM | Typ 2 Diabetes mellitus |
| PKA | Proteinkinase A | UCP-2 | <i>Uncoupling protein-2</i> |
| PKC | Proteinkinase C | | |
| PP | Pyrophosphat | | |

1 Einleitung

1.1 Klassifikation des Diabetes mellitus

Unter dem Begriff Diabetes mellitus werden Stoffwechselstörungen zusammengefasst, deren Leitsymptom eine chronische Hyperglykämie ist. Ursachen sind entweder eine gestörte Insulinsekretion oder eine verminderte Insulinwirksamkeit oder auch beides (1, 2) (Tabelle 1).

Tabelle 1. Klassifikation des Diabetes mellitus nach ADA 2015 (1)

| Klasse | Ursache |
|--------------------------------------|--|
| I. Typ 1 Diabetes mellitus | Zerstörung der insulinproduzierenden Betazellen im Pankreas führt zum absoluten Insulinmangel |
| • Typ Ia | Immunologisch vermittelt |
| • Typ Ib | Idiopathisch |
| II. Typ 2 Diabetes mellitus | Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis hin zum sekretorischen Defekt einschließlich Insulinresistenz |
| III. Gestationsdiabetes mellitus | im zweiten oder dritten Trimenon der Schwangerschaft diagnostizierter Diabetes mellitus |
| IV. Andere spezifische Diabetestypen | |
| • Gruppe A | Genetische Defekte der Betazellfunktion |
| • Gruppe B | Genetische Defekte der Insulinwirkung |
| • Gruppe C | Erkrankungen des exokrinen Pankreas |
| • Gruppe D | Diabetes als Folge von Endokrinopathien |
| • Gruppe E | Diabetes als Folge von Medikamenten oder Chemikalien |
| • Gruppe F | Diabetes als Folge von Infektionen |
| • Gruppe G | Seltene, immunologisch bedingte Formen von Diabetes |
| • Gruppe H | Andere, manchmal mit Diabetes assoziierte Syndrome |

1.2 Diagnosekriterien des Diabetes mellitus

Gemäß den aktuellen Empfehlungen der *American Diabetes Association* (ADA) (Tabelle 2) liegt ein Diabetes mellitus vor, wenn eines der folgenden Diagnosekriterien erfüllt ist (1):

- Klassische Symptome des Diabetes mellitus wie Polyurie, Polydipsie und ein nicht zu erklärender Gewichtsverlust sowie eine venöse Plasmaglukose ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) zu einem beliebigen Zeitpunkt des Tages ohne Beziehung zu den Mahlzeiten.
- Nüchternglukose im venösen Plasma ≥ 126 mg/dl (7 mmol/l). Nüchtern bedeutet, dass mindestens acht Stunden zuvor keine Kalorien aufgenommen wurden.
- Venöse Plasmaglukose ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) zwei Stunden nach Gabe von 75 g Glukose im oralen Glukosetoleranztest (OGTT).
- HbA1c $\geq 6,5\%$ (≥ 48 mmol/mol)

Tabelle 2. Diagnosekriterien des Diabetes mellitus nach ADA 2015 (1). IFG= *impaired fasting glucose* (abnorme Nüchternglukose). IGT= *impaired glucose tolerance* (gestörte Glukosetoleranz)

| | Nüchternglukose im venösen Plasma (mg/dl) | Gelegenheitsglukose im venösen Plasma (mg/dl) | 2h-OGTT-Wert im venösen Plasma (mg/dl) |
|----------------------------------|---|---|--|
| Normalbefund | <100 | | <140 |
| Gestörter Glukosestoffwechsel | 100-125 (= IFG) | | 140-199 (= IGT) |
| Diabetes mellitus | ≥ 126 | ≥ 200 + Symptome | ≥ 200 |

Seit 2010 empfiehlt die ADA auch die Verwendung des glykierten Hämoglobins (HbA1c) zur Diagnose des Diabetes mellitus (HbA1c $\geq 6,5\%$ oder ≥ 48 mmol/mol) (1, 2). Epidemiologische Untersuchungen haben gezeigt, dass die Spezifität eines HbA1c $\geq 6,5\%$ groß genug ist, um die Diagnose Diabetes mellitus zu stellen, und die Sensitivität eines HbA1c $< 5,7\%$ groß genug ist, um Diabetes mellitus auszuschließen (3).

1.3 Epidemiologie des Diabetes mellitus

Auf Basis von epidemiologischen Schätzungen waren im Jahr 2008 weltweit 9,8% der Männer und 9,2% der Frauen über 25 Jahren an Diabetes mellitus erkrankt, während es 1980 noch 8,3% der Männer und 7,5% der Frauen über 25 Jahren waren (4). Die Anzahl der Menschen mit Diabetes mellitus stieg von 153 Millionen im Jahr 1980 auf 347 Millionen im Jahr 2008 an und hat sich innerhalb von fast drei Jahrzehnten mehr als verdoppelt. Andere Berechnungen gehen von 285 Millionen Diabetes-Patienten im Jahr 2010 aus und sagen einen Anstieg auf 439 Millionen für das Jahr 2030 voraus (5).

Auch in Deutschland leiden immer mehr Menschen an Diabetes. Die Prävalenz des Diabetes stieg in Deutschland von 5,9% im Jahr 1998 auf 8,9% im Jahr 2007 an, wie aus einer seit 1998 laufenden regelmäßigen Auswertung von Krankenkassendaten von mehr als 300 000 Versicherten der AOK Hessen hervorgeht (6). Allein im Jahr 2007 wurden mehr als 7 Millionen Bundesbürger wegen eines Diabetes behandelt. Nur 5-10% der Diabetes-Patienten in Deutschland leiden an Typ 1 Diabetes (T1DM), während bei mehr als 90% ein Typ 2 Diabetes (T2DM) vorliegt (6). Jedes Jahr werden in Deutschland 270 000 neue Fälle von T2DM in der Bevölkerungsgruppe der 55- bis 75-Jährigen diagnostiziert (7). 2010 waren 2,4 Millionen Deutsche im Alter von 55 bis 74 Jahren an T2DM erkrankt, und 2030 muss Schätzungen zufolge bereits von 3,9 Millionen Personen dieser Altersklasse mit T2DM ausgegangen werden. Gegenüber heute ist dies ein Anstieg von mehr als 1,5 Millionen (8). Diese Prognose berücksichtigt auch Präventionsmaßnahmen, die das Auftreten eines T2DM verhindern oder verzögern können. Würde nur jede zweite Person im Alter von 55-74 Jahren mit IFG und/oder IGT an effektiven und dauerhaften Maßnahmen zur besseren Ernährung und Gewichtsabnahme teilnehmen, wären bis zum Jahr 2030 fast 400 000 neue Fälle von T2DM vermeidbar (8).

1.4 Physiologie der Betazelle

Glukose ist eine Hauptenergiequelle des Organismus. Zur Aufrechterhaltung physiologischer Blutglukosekonzentrationen setzen die Betazellen zum richtigen Zeitpunkt fein dosierte Mengen an Insulin mit optimaler Geschwindigkeit frei. Dabei unterliegen sie einer strengen Kontrolle durch Nährstoffe, Hormone und Neurotransmitter. Erreicht wird dies durch komplexe Mechanismen, die im Folgenden dargestellt werden.

1.4.1 Rolle der Betazelle in der Blutglukoseregulation

Die Betazellen, die Insulin produzieren und sezernieren, stellen 60-80 % der endokrinen Zellen der pankreatischen Langerhans-Inseln dar. Insulin ist das einzige Hormon, das die Blutglukose relevant senkt, und wird als Schlüsselhormon der Blutglukoseregulation bezeichnet. Normale Blutglukosewerte ergeben sich aus einem ausgewogenen Wechselspiel zwischen Insulinsekretion und Insulinwirkung. Obwohl auch freie Fettsäuren (FFS) und Aminosäuren die Insulinsekretion stimulieren, ist die Erhöhung der Blutglukosekonzentration für die Betazelle der wichtigste Reiz zur Ausschüttung von Insulin (9). Vier Faktoren spielen in *in-vitro* und *in-vivo*-Studien eine große Rolle für die Regulation der Betazellantwort auf einen Glukosestimulus (10):

1. Die absolute Glukosesensitivität ist ein Maß dafür, ob die Betazelle auf Änderungen der Plasmaglukosekonzentration reagieren kann.
2. Die relative Glukosesensitivität gibt an, inwiefern die Betazelle fähig ist, auf Änderungen der Plasmaglukosekonzentrationsrate zu antworten.
3. Das Ausmaß der Insulinresistenz beeinflusst die Insulinsekretion erheblich.
4. Das Phänomen der Potenzierung erklärt, warum die Insulinsekretion als Antwort auf einen Glukosereiz in Anwesenheit von stimulierenden Faktoren verstärkt wird. Hier ist besonders der Einfluss der Inkretine GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*) und GIP (*glucose-dependent insulinotropic peptide*, früher *gastric inhibitory peptide*) hervorzuheben. Die ausführliche Beschreibung des Inkretineffekts auf die Betazelle erfolgt in Kapitel 1.4.4. Die Bedeutung des Parasympathikus ist ebenfalls zu berücksichtigen, da die Stimulation von M3-Cholinrezeptoren die Aktivität der Betazelle steigert (11).

Die Betazellen schütten Insulin aus, um die im Blut zirkulierenden Glukosekonzentrationen in einem physiologischen Bereich zu halten. Einerseits wird so das Gehirn immer ausreichend mit Glukose versorgt und eine Hypoglykämie (Plasmaglukosekonzentration <50 mg/dl) verhindert. Andererseits entsteht auch keine Hyperglykämie. Sie geht schon in geringem Ausmaß (IFG und/oder IGT) mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einher (12) und führt langfristig zu den typischen mikrovaskulären Spätschäden des Diabetes mellitus.

1.4.2 Molekulare Mechanismen der Insulinsekretion

Der Mechanismus der glukosestimulierten Insulinsekretion ist gut untersucht (13, 14). Glukose gelangt über den insulinunabhängigen Glukosetransporter 2 (GLUT2) in das Zytosol der Betazelle und wird anschließend durch die Glukokinase phosphoryliert. Die Glukokinase ist das Schlüsselenzym der Glykolyse und startet den Glukoseabbau. Glykolyse, Citratzyklus und Atmungskette führen zum vollständigen Verbrauch von Glukose. In der Folge steigt in der Betazelle die Konzentration von ATP im Zytosol an, während gleichzeitig die Konzentration von MgADP abfällt. Die Aufnahme von Glukose in die Betazelle über GLUT2, die Phosphorylierung von Glukose mittels Glukokinase und der aerobe Abbau zu H₂O und CO₂ sind so reguliert, dass die ATP-Bildung proportional zur Glukosekonzentration im Blut ist. Die erhöhte zytosolische ATP-Konzentration induziert die Schließung eines ATP-sensitiven Kaliumkanals (K⁺_{ATP}-Kanal) in der Plasmamembran der Betazelle. Dieses Kaliumkanalprotein besteht aus jeweils 4 regulatorischen Sulfonylharnstoffrezeptoren vom Typ 1 (SUR1) und 4 porenbildenden Untereinheiten (Kir6.2). *In-vivo* kommt es zu einem K⁺-Ausstrom entlang des

Konzentrationsgradienten ($[K^+]_{\text{intrazellulär}} = 150 \text{ mmol/l}$, $[K^+]_{\text{extrazellulär}} = 5 \text{ mmol/l}$). Da nun ATP an eine intrazellulär gelegene Struktur am SUR1 bindet, wird die Pore des K^+ ATP-Kanals geschlossen und die Permeabilität für K^+ nimmt ab. Dies führt zur Depolarisation der Plasmamembran, woraus eine Änderung des Ruhemembranpotenzials von etwa -70 mV in Richtung weniger negativer Werte um -40 mV resultiert. Ist ein Schwellenwert von etwa -40 mV erreicht, öffnen sich spannungsabhängige Calciumkanäle (L-Typ Ca^{2+} -Kanäle), so dass Ca^{2+} in die Betazelle einströmen kann. Der Anstieg der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration ist das Signal für die Betazelle zur Exozytose von Insulin aus Speichergranula (Abb. 1).

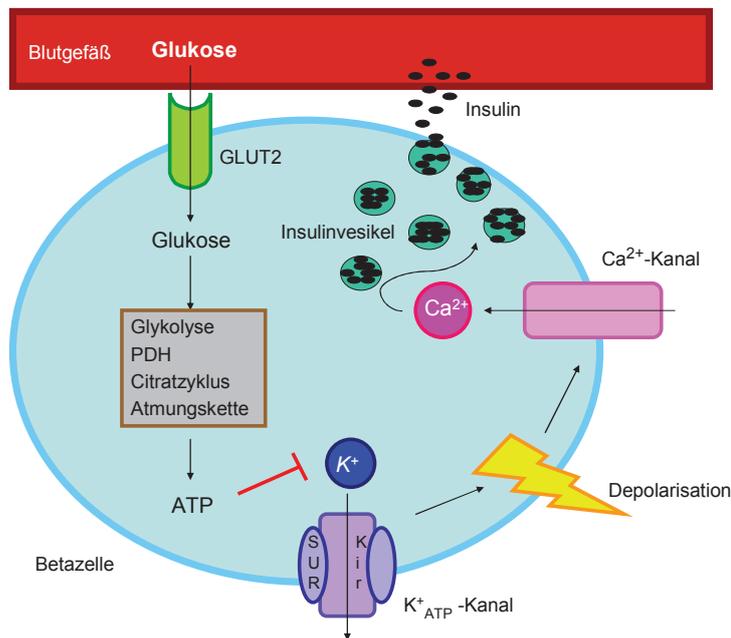


Abb. 1: Molekulare Mechanismen der Insulinsekretion. GLUT2= Glukosetransporter 2. PDH= Pyruvat-Dehydrogenase. ATP= Adenosintriphosphat

Obwohl K^+ ATP-Kanäle eine Schlüsselstellung im Rahmen der glukosestimulierten Insulinsekretion einnehmen, kann Glukose die Insulinsekretion auch unabhängig von K^+ ATP-Kanälen beeinflussen. Auf einen Glukosestimulus antworteten die Betazellen von Mäusen und Ratten, in denen K^+ ATP-Kanäle pharmakologisch durch Diazoxid geöffnet waren und die durch hohe extrazelluläre K^+ -Konzentrationen depolarisiert wurden, mit einer gesteigerten Insulinsekretion (15, 16). In einem anderen Experiment wurden alle K^+ ATP-Kanäle von Maus-Inseln durch hohe Konzentrationen von Sulfonylharnstoffen komplett geschlossen. Eine Erhöhung der Glukosekonzentration bewirkte eine Verstärkung der Insulinsekretion, die über die allein durch Sulfonylharnstoffe ausgelöste Insulinsekretionsrate hinaus ging (17).

Eine deutliche Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration in der Betazelle ist aber für den verstärkenden Effekt von Glukose auf die Insulinsekretion unerlässlich. In Studien an Pankreas-Inseln ohne K^+ _{ATP}-Kanäle nach Knock-out von SUR1 oder Kir6.2 wurden die Betazellen unabhängig von K^+ _{ATP}-Kanälen depolarisiert und ein Ca^{2+} -Einstrom als Antwort auf einen Glukosestimulus beobachtet (18, 19).

1.4.3 Pulsatilität der Insulinsekretion

Insulin wird pulsatil aus der Betazelle freigesetzt. Schnelle Pulse, die alle 5-10 min auftreten, werden von langsamen (ultradianen) Oszillationen überlagert, die in Perioden von 50-150 min ablaufen (20). Die ultradianen Oszillationen werden besonders gut unter insulinstimulierten Bedingungen gesehen, wie zum Beispiel nach dem Essen (21). Die Betazellen der mehr als 1 Millionen Langerhans-Inseln setzen Insulin gleichzeitig frei. Eine einzige Insel besteht aus 100 bis 1000 Betazellen. Eine gute elektrophysiologische Kopplung der Betazellen soll für diese gute Koordination verantwortlich sein und die Differenzen im individuellen Betazellrhythmus überwinden (22).

Schon vor mehr als 30 Jahren beschrieben Grodsky et al. ein biphasisches Sekretionsmuster als Antwort auf einen Glukosereiz bei *in-vitro*-Experimenten am isolierten Pankreas von Ratten (23). Auch beim gesunden Menschen zeigt sich nach Glukosezufuhr typischerweise eine biphasische Insulinsekretionskurve (24) (Abb. 2). Schon wenige Minuten nach Glukosebelastung erfolgt eine bolusartige Ausschüttung von Insulin. Die Amplitude dieser ersten, schnellen Phase ist direkt vom Grad des Glukoseanstiegs abhängig. Wenn die Blutglukosekonzentration konstant weiter erhöht wird, dann ist eine zweite Phase mit langsamer ansteigenden und länger anhaltenden Insulinspiegeln zu erkennen. Auch die Amplitude dieser zweiten Phase ist linear abhängig vom Wert der Glukosekonzentration im Blut. Mit chronischer Erhöhung der Blutglukosekonzentration nimmt die Insulinfreisetzung allmählich ab. Dies wird auch als Desensibilisierungsphase bezeichnet.

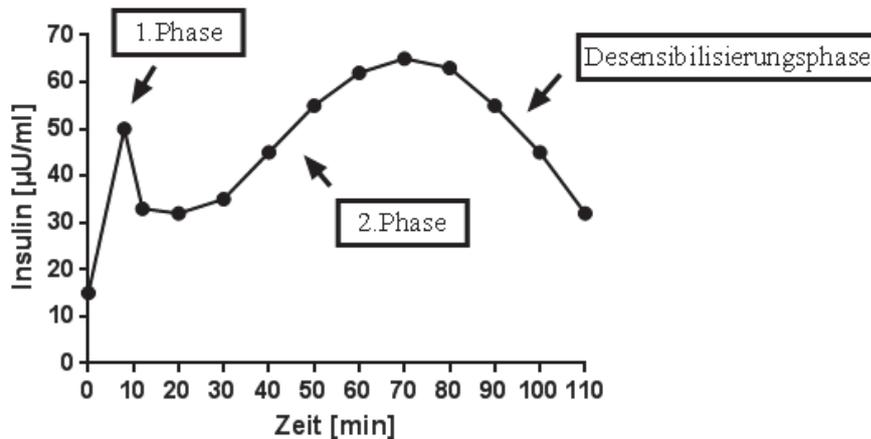


Abb. 2.: Biphasische Insulinsekretion nach Glukosebelastung beim gesunden Menschen (modifiziert nach (24))

Sowohl in Tierversuchen als auch in Studien an Menschen wurde die physiologische Bedeutung der schnellen Phase der Insulinsekretion für die postprandiale Glukosehomöostase nachgewiesen (25, 26). Insulin, das in der ersten Phase ausgeschüttet wird, hemmt die endogene Glukoseproduktion in der Leber und verhindert, dass die Blutglukosespiegel nach einer Mahlzeit zu sehr ansteigen. Die erste Phase der Insulinsekretion stellt aber nur eines der Merkmale der Betazellfunktion dar und reicht nicht aus, um die Betazellfunktion komplett zu beschreiben (24). Je nach experimentellen Bedingungen und je nach Spezies variieren die Charakteristika der zwei Phasen der Insulinsekretion. *In-vivo* stiegen im hyperglykämischen Clamp oder unter intravenöser Glukosebelastung die Plasmainsulinspiegel in der zweiten Phase der Insulinsekretion bei Mensch, Ratte und Maus an. Dagegen stiegen in *in-vitro*-Untersuchungen am isolierten Pankreas oder an isolierten Pankreas-Inseln die Plasmainsulinspiegel in der zweiten Phase nur bei der Ratte an, nicht aber bei Mensch und Maus (25, 26).

1.4.4 Inkretineffekt auf die Betazelle

Als Inkretineffekt wird die Beobachtung beschrieben, dass bei gleich hohen Blutglukosespiegeln eine orale Gabe von Glukose zu einer wesentlich stärkeren Insulinfreisetzung aus den Betazellen führt als eine intravenöse Applikation der gleichen Menge Glukose (27). Verantwortlich für diesen Effekt sind Inkretinhormone, die vom Darm als Antwort auf eine orale Glukosebelastung freigesetzt werden und in Abhängigkeit von der aufgenommenen Glukosemenge wirken. Der Inkretineffekt macht bis zu 70% der Insulinsekretion nach oraler Glukosezufuhr aus (28). Auch nach oraler Gabe von Fett ist ein Inkretineffekt auf die Betazelle zu beobachten (29). Einige Aminosäuren und Fruktose stimulieren ebenfalls die Freisetzung der Inkretine (30, 31).

Insbesondere GLP-1 und GIP vermitteln den Inkretineffekt auf die Betazelle. GLP-1 wird von den L-Zellen des Darms sezerniert. Besonders viele L-Zellen befinden sich im Ileum und Kolon (31). Die Konzentration von GLP-1 steigt im Blut schon rasch nach Beginn der Nahrungsaufnahme an. In einer Studie wurde die Freisetzung von GLP-1 bei Patienten nach Resektion des Dünndarms oder des Kolons untersucht. Bei allen Patienten wurde eine deutliche und frühe Sekretion von GLP-1 beobachtet (32). Für die direkte Freisetzung von GLP-1 aus L-Zellen ist daher eher die kleine Anzahl L-Zellen des oberen Gastrointestinaltraktes verantwortlich. Indirekte Mechanismen für die Sekretion von GLP-1, wie die Stimulation durch das autonome Nervensystem oder der Einfluss anderer gastrointestinaler Hormone, sollten auch berücksichtigt werden (31). GIP wird von K-Zellen im Duodenum und Jejunum sezerniert (33).

Die Wirkungen von GLP-1 und GIP auf die Insulinsekretion werden durch G-Protein-gekoppelte Rezeptoren der Betazelle vermittelt. In der Betazelle löst die Bindung von GLP-1 an seinen Rezeptor die Aktivierung der Adenylatzyklase aus, die aus ATP unter Abspaltung von Pyrophosphat die Bildung von cAMP katalysiert. cAMP aktiviert die Proteinkinase A (PKA), die durch Phosphorylierung die K^+_{ATP} -Kanäle der Betazelle inhibiert, so dass die Zellmembran depolarisiert wird. Dies führt zum Ca^{2+} -Einstrom durch L-Typ Ca^{2+} -Kanäle, wodurch schließlich die Exozytose von Insulingranula ausgelöst wird (34) (Abb. 3). GLP-1 vermittelt die Insulinsekretion aber nicht nur abhängig von PKA, sondern auch durch die Aktivierung von Epac2 (*exchange protein directly activated by cAMP 2*). Dieses Protein spielt nach Bindung von cAMP eine Rolle in der Ca^{2+} -induzierten Insulinfreisetzung und führt zur Mobilisierung von Ca^{2+} aus intrazellulären Ca^{2+} -Speichern (35) (Abb. 3).

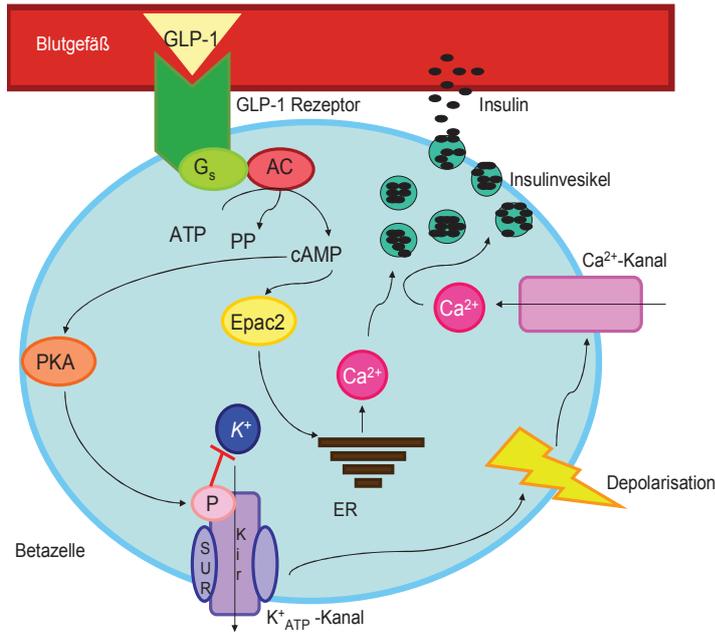


Abb. 3: Molekulare Wirkungen von GLP-1 auf die Insulinsekretion der Betazelle. GLP-1= Glucagon-like peptide-1. G_s = stimulierendes G-Protein. AC= Adenylatcyclase. ATP= Adenosintriphosphat. PP= Pyrophosphat. cAMP= zyklisches Adenosinmonophosphat. PKA= Proteinkinase A. P= Phosphorylierung. Epac2= exchange protein directly activated by cAMP 2. ER= endoplasmatisches Retikulum (Ca^{2+} -Speicher)

Nach Bindung an spezifische Rezeptoren fördert GLP-1 die Insulinbiosynthese über die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wie IDX-1 und beeinflusst die Interaktion zwischen IDX-1 und dem Promoter des Gens für Insulin (36). Inkretine stimulieren außerdem die Biosynthese anderer Betazellprodukte. Sie regulieren die Genexpression für den GLUT2 und die Glukokinase hoch, so dass die Betazelle besser auf einen Glukosereiz reagieren kann (36). In Tierversuchen und in *in-vitro*-Experimenten hatte GLP-1 Einfluss auf die Differenzierung von Vorläuferinseln zu insulinproduzierenden Betazellen und senkte die Apoptoserate der Betazellen (37).

1.5 Bestimmung der Betazellfunktion *in vivo*

Da die Betazelle eine Schlüsselrolle für den Erhalt der Glukosehomöostase spielt und eine Betazellfunktionsstörung typischerweise bei Glukoseintoleranz und T2DM auftritt, werden in diesem Kapitel die wichtigsten Methoden zur Beurteilung der Betazellfunktion *in vivo* vorgestellt. Eine einzelne Methode reicht für eine vollständige Beurteilung der Betazellfunktion nicht aus, da die Betazellantwort auf einen Stimulus komplex ist und jeder Betazellfunktionstest seine Vor- und Nachteile hat (24). Im Folgenden werden nur die für diese Arbeit relevanten Betazellfunktionstests beschrieben.

1.5.1 Nüchtern-Insulinkonzentrationen

Periphere Insulinkonzentrationen spiegeln die Insulinsekretion der Betazellen nur teilweise wider. Insulin wird in der Leber bereits zu 40-80 % eliminiert, bevor es die Peripherie erreicht (38). Personen mit Insulinresistenz haben eine verminderte Insulinclearance. Deshalb überschätzen vor allem Nüchtern-Insulinkonzentrationen die Insulinsekretion bei glukoseintoleranten Personen im Vergleich zu glukosetoleranten Personen (39).

Die Betazellfunktion kann mit Hilfe des *Homeostasis model assessment* (HOMA-B) aus den Nüchternkonzentrationen von Insulin und Glukose berechnet werden ($HOMA-B = 20 \times \text{Insulin}_{0 \text{ min}} / (\text{Glukose}_{0 \text{ min}} - 3,5)$). Um für jede mögliche Kombination von Insulin- und Glukosewerten die entsprechenden Werte für die Betazellfunktion zu erhalten, wurde ein Computermodell entworfen, auf dem die HOMA-B-Methode basiert. Die Berechnungen beziehen sich auf gesunde, normalgewichtige Personen unter 35 Jahren. In diesem Normalkollektiv hat die Betazellfunktion den Wert 1 oder 100%. Eine spezifische Betazellfunktion wird im HOMA-B-Modell nicht repräsentiert.

1.5.2 Oraler Glukosetoleranztest

Zur Diagnose oder zum Ausschluss einer gestörten Glukosetoleranz oder eines Diabetes mellitus wird der OGTT eingesetzt. Vor Durchführung des OGTT sollen sich die Patienten drei Tage lang kohlenhydratreich (150 g/d) ernähren. Nach mindestens zehn Stunden Nahrungskarenz nehmen die Patienten am Morgen 75 g Glukose in 250 bis 300 ml Wasser innerhalb von fünf Minuten im Sitzen oder Liegen zu sich. Blutentnahmen zur Bestimmung der Plasma-Glukosekonzentration erfolgen nüchtern und zwei Stunden nach dem Trinken der Glukoselösung (2).

In klinischen Studien wird der OGTT auch zur Beurteilung der Insulinsekretion angewandt. Die Methode basiert auf einem Standard-75g-OGTT mit Messungen von Glukose, Insulin und C-Peptid zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90 und 120 min (24). Aus diesen Daten können Indices zur Insulinsekretion berechnet werden. Um die erste Phase der Insulinsekretion zu beurteilen, werden Indices gebraucht, die das Verhältnis zwischen Insulin- und Glukosekonzentration beschreiben (24). Der insulinogene Index (IGI) ergibt sich aus dem Verhältnis zwischen der Veränderung der Plasma-Insulinkonzentration und der Veränderung der Plasma-Glukosekonzentration zu Minute 30 im OGTT und wird zur Beurteilung der ersten Phase der Insulinsekretion verwendet ($IGI = \Delta I30 / \Delta G3 = [(\text{Insulin}_{30 \text{ min}} - \text{Insulin}_{0 \text{ min}}) / (\text{Glukose}_{30 \text{ min}} - \text{Glukose}_{0 \text{ min}})]$) (41). Patienten mit T2DM haben im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden einen niedrigeren IGI im OGTT.

Gesunde Personen setzen bei vergleichbarem Glukosestimulus zwei- bis dreimal mehr Insulin frei als Patienten mit T2DM. Je schlechter die Blutglukosewerte nüchtern und postprandial eingestellt sind, desto niedriger liegt der IGI.

Um die Insulinsensitivität *in-vivo* zu messen, wird in klinischen Studien als Goldstandard der hyperinsulinämische-euglykämische Clamp durchgeführt (42). Diese Technik ist jedoch experimentell anspruchsvoll und teuer und für epidemiologische und klinische Studien mit hohen Probandenzahlen praktisch nicht geeignet. Die Insulinsensitivität kann auch anhand der Glukose- und Insulinwerte aus dem OGTT berechnet werden. Formeln für die Insulinsensitivität aus dem OGTT haben Mari et al. (*oral glucose insulin sensitivity*, OGIS) (43) und Matsuda et DeFronzo (Insulinsensitivitätsindex, ISIcomp) (44) festgelegt. Niedrige Indices bedeuten eine geringe Insulinsensitivität. Die Berechnungen dieser Indices werden in Kapitel 3.2.6.2 besprochen.

1.5.3 Intravenöser Glukosetoleranztest

Der intravenöse Glukosetoleranztest (IVGTT) dient vor allem der Bestimmung der ersten Phase der Insulinsekretion. Als Index für die erste Phase der Insulinsekretion wird die akute Insulinantwort (*acute insulin response*, AIR) verwendet. Zur Bestimmung der AIR reicht ein 10 min IVGTT aus. Die AIR ist definiert als mittlerer Anstieg der Insulinkonzentration während der ersten zehn Minuten nach Glukoseinfusion im Vergleich zum Ausgangswert (24). Die AIR wird mittels Trapezregel als inkrementelle Fläche unter der Kurve (*incremental area under the curve*, iAUC) für die ersten 10 Minuten des IVGTT berechnet (Kapitel 3.2.6.1). Die erste Phase der Insulinsekretion ist von der Höhe des Glukoseanstiegs nach dem Bolus abhängig. Da die Glukosedosis standardisiert ist, muss die AIR im Bezug auf den Glukoseanstieg nicht normalisiert werden (24). Zwischen AIR und Insulinsensitivität gibt es eine inverse Korrelation (45). Die Betazelle passt die Insulinsekretion an das Ausmaß der Insulinresistenz an, um normale Blutglukosespiegel aufrechtzuerhalten. Um die Betazellfunktion korrekt zu beurteilen, muss auch die Insulinsensitivität gemessen werden. Die Parameter für die Betazellfunktion werden um das Ausmaß der Insulinresistenz korrigiert (24). Der Dispositionsindex (DI) setzt die Betazellfunktion nach der Formel $DI = AIR \times \text{Insulinsensitivitätsindex } ISI$ in Bezug zur Insulinresistenz (46). Der DI bezieht sich auf den hyperbolischen Zusammenhang zwischen Insulinsekretion und Insulinsensitivität, denn physiologischerweise steigt die Insulinsekretion bei Abnahme der Insulinsensitivität und umgekehrt. Daher ist der DI ein Maß für die Fähigkeit der Betazellen, das Ausmaß einer vorliegenden Insulinresistenz zu kompensieren. Ein niedriger DI bedeutet eine inadäquate Betazellkompensation (46).

1.5.4 Mixed-Meal Tolerance Test

Anstelle eines OGTT kann auch ein *Mixed-Meal Tolerance Test* (MMTT) zur Beurteilung der Insulinsekretion eingesetzt werden. Nach der Einnahme einer standardisierten, gemischten (Trink-)Mahlzeit aus Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß erfolgen Blutabnahmen zur Bestimmung der Glukose-, Insulin- und C-Peptidkonzentrationen (24). Bisher liegen nur wenige Studien zum MMTT bei T2DM vor. In Studien bei T1DM gilt der MMTT jedoch als Goldstandard zur Messung der verbleibenden endogenen Insulinsekretion (47-51). Patienten mit neu diagnostiziertem T1DM haben oft im frühen Krankheitsverlauf noch eine teilweise erhaltene Betazellfunktion. Um diese einzuschätzen, wird die stimulierte C-Peptid-Antwort im MMTT betrachtet. Es ist nicht einheitlich festgelegt, wie lange ein MMTT dauern soll. Bei T1DM beträgt die Testdauer oft 1,5 h (47, 48) oder 2 h (49, 50), aber auch bis zu 4 h (51).

Im Vergleich zur intravenösen Gabe von Glukose im IVGTT lässt sich die Betazellfunktion im MMTT weniger spezifisch beurteilen (24). Die orale Aufnahme einer gemischten Mahlzeit stimuliert die entero-insulinäre Achse und ruft eine komplexe neuronale und hormonelle Antwort hervor, so dass die Insulinsekretion potenziert wird. Das Ausmaß dieser Potenzierung ist nicht nur vom Grad der Aktivierung des autonomen Nervensystems und der Freisetzung von Inkretinhormonen abhängig, sondern auch von der Betazellfunktion selbst. Inkretinhormone binden an spezifische Betazellrezeptoren und aktivieren so Signalwege. Mittels MMTT kann die Betazellfunktion umfassend beurteilt werden, aber es kann nicht zwischen Defekten der Betazelle und Defekten der entero-insulinären Achse unterschieden werden (24).

Ein Vergleich des OGTT mit dem MMTT in einer populationsbasierten Kohorte aus Personen mit NGT (normale Glukosetoleranz) (n=161), IGT (n=19) und T2DM (n=20) ergab, dass die Betazellantwort auf eine gemischte Mahlzeit im MMTT höher war als auf die gleiche Kohlenhydratmenge im OGTT (52). Die entero-insulinäre Achse wird durch die Mischung aus Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß besser stimuliert als durch die Gabe von Glukose.

1.5.5 Glukagonstimulationstest

Mit Hilfe des Glukagonstimulationstests (GST) wird die Sekretionskapazität der Betazellen beurteilt (53). Glukagon stimuliert die Ausschüttung von Glukose aus der Leber. Die Glukosekonzentration im Blut steigt und bewirkt die Freisetzung von Insulin. Der GST ist einfach durchzuführen und wenig zeitaufwendig. Zwei parallele Studien an Patienten mit T1DM verglichen den MMTT mit dem GST und zeigten, dass der MMTT dem GST überlegen ist (51).

Die C-Peptidkonzentrationen wurden nach Einnahme einer Flüssigmahlzeit im MMTT über 2-4 h und nach Glukagoninjektion im GST über 10 min gemessen. C-Peptid wird zusammen mit Insulin in äquimolaren Mengen von den Betazellen sezerniert und vernachlässigend gering in der Leber eliminiert. Der MMTT war sensitiver als der GST, da die maximal stimulierten C-Peptidkonzentrationen relativ zu den Nüchtern-C-Peptidkonzentrationen höher ausfielen. Im MMTT wurden die C-Peptid-Maximalkonzentrationen zu Minute 90 und im GST zu Minute 6 erreicht. Je höher die Sensitivität, desto sicherer erfasste der Test die verbleibende endogene Insulinsekretion. Der MMTT war besser zu reproduzieren und wurde von den Probanden besser toleriert als der GST, bei dem Übelkeit als häufige Nebenwirkung auftrat.

1.6 Pathophysiologie des Typ 2 Diabetes

Wenn insulinempfindliche Gewebe und Organe nicht angemessen auf Insulin reagieren, liegt eine Verminderung der Insulinsensitivität, das heißt Insulinresistenz, vor. Sie besteht oft schon lange bevor ein T2DM diagnostiziert wird (54). Die Abnahme der Insulinsensitivität bewirkt eine kompensatorische Stimulation der Insulinsekretion, so dass die Insulinspiegel im Blut zunächst ansteigen, die Blutglukosekonzentrationen aber noch nicht oder nur minimal ansteigen. Erst wenn die Betazellen die Insulinsekretion nicht mehr adäquat steigern können, steigt die Blutglukosekonzentration langsam an und führt letztendlich zur Manifestation des T2DM (Kapitel 1.6.1, Kapitel 1.6.2). Neben angeborenen Faktoren können auch Hyperglykämie und Hyperlipidämie die Betazellen schädigen. (Kapitel 1.6.3).

1.6.1 Insulinresistenz

Schon vor mehr als 50 Jahren stellten Randle et al. die Hypothese auf, dass hohe Konzentrationen an FFS die insulinstimulierte Glukoseverwertung im Muskel durch Hemmung von Schlüsselenzymen der Glykolyse beeinträchtigen (55). Roden et al. zeigten, dass eine Abnahme des Glukosetransports bzw. der Phosphorylierung von Glukose unter Insulinstimulation für die lipidinduzierte Insulinresistenz am Skelettmuskel verantwortlich ist (56-58). Nicht nur ein hoher Spiegel an FFS im Blut trägt zur Entwicklung der Insulinresistenz am Muskel bei. Die myozelluläre Akkumulation von Diacylglycerolen bewirkt die Aktivierung der Proteinkinase C Theta, die die Serin-Phosphorylierung des Insulin-Rezeptor-Substrates 1 (IRS-1) katalysiert. So wird die insulinbedingte Tyrosin-Phosphorylierung von IRS-1 und in der Folge die Stimulierung des Insulinsignalwegs im Muskel verhindert (59, 60). Nachkommen von Patienten mit T2DM sind für eine intramyozelluläre Lipidakkumulation und Insulinresistenz besonders prädisponiert (61). Eine hepatozelluläre Lipidspeicherung bei einer Steatose der Leber

verursacht Defekte am Insulinsignalweg, die zur Insulinresistenz an der Leber führen. Analog zum Skelettmuskel wurde eine Aktivierung der Proteinkinase C Epsilon und eine verminderte Tyrosin-Phosphorylierung von IRS2 durch die Tyrosinkinase des Insulinrezeptors beobachtet (62). Weißes Fettgewebe ist nicht nur ein Energiespeicher, sondern setzt auch Signalstoffe frei. Eines dieser Fettgewebshormone, das Adiponektin, verbessert die Insulinsensitivität und verhält sich umgekehrt proportional zur viszeralen Fettmasse (63). Auch die verminderte Sekretion von Adiponektin spielt in der Pathogenese der lipidinduzierten Insulinresistenz eine Rolle (64). Eine besondere Beziehung gibt es zwischen Fettgewebe und Inflammation, da Makrophagen nicht nur eine ähnliche Genexpression wie Adipozyten aufweisen, sondern bei stark übergewichtigen Menschen ins Fettgewebe wandern und dort proinflammatorische Zytokine ausschütten, welche die Insulinresistenz verstärken (65).

Die lipidinduzierte Insulinresistenz spielt eine wichtige Rolle in der Entstehung des T2DM, aber nicht jeder Übergewichtige ist diabetesgefährdet. Es gibt stoffwechselgesunde Übergewichtige, die eine ähnlich gute Insulinempfindlichkeit wie Normalgewichtige haben und überschüssige Energie als subkutanes Fett speichern oder in den Mitochondrien von Leber und Muskel verbrennen. Diesen Stoffwechselgesunden stehen Übergewichtige gegenüber, die ektopes Fett in Leber und Muskel speichern und eine ausgeprägte Insulinresistenz und ein hohes Risiko für T2DM haben (66). Eine hohe Lipidoxidation kann Stoffwechselgesunde vor den Folgen des Übergewichts auf die Insulinsensitivität schützen, da sich intramyozellulär keine Lipide ansammeln. Eine geringe Lipidoxidation führt dagegen zu einer Lipidspeicherung im Skelettmuskel (67). Eine gute Insulinempfindlichkeit war bei stoffwechselgesunden Übergewichtigen vor allem mit einem geringen intrahepatischen Fettgehalt assoziiert (66). Daher bestimmt ektopes Leberfett die Zugehörigkeit zu den Stoffwechselgesunden eher als eine intramyozelluläre Lipidakkumulation (68). Bei stark übergewichtigen Patienten mit einer Fettleber wird zunächst vermehrt Fett verbrannt, da in frühen Stadien des Übergewichts die Aktivität der Mitochondrien in der Leber gesteigert ist. Die hohe Lipidoxidation führt aber dazu, dass die Leber überlastet wird und die Fettlebererkrankung fortschreiten kann (69).

1.6.2 Insulinsekretionsstörung und Betazellverlust

Die Kapazität der Insulinsekretion ist entscheidend für die Manifestation des T2DM, da Hyperglykämie und Glukoseintoleranz bei Patienten mit Insulinresistenz nicht auftreten, solange Insulin von den Betazellen adäquat als Antwort auf einen Glukosestimulus ausgeschüttet wird.

Bei Patienten mit T2DM kann ein Verlust der Betazellmasse und eine funktionelle Störung der Insulinsekretion beobachtet werden (70).

Eine Autopsiestudie von Patienten mit T2DM ergab einen Betazellverlust von 40-60% als Folge einer erhöhten Apoptoserate (71). Eine andere Autopsiestudie wies fünf Jahre nach Erstdiagnose des T2DM eine Reduktion der Betazellmasse um 24% nach (72). In Sprague-Dawley Ratten bewirkte eine intrauterine Wachstumsverzögerung den Verlust von Betazellen und die Entwicklung eines T2DM (73). Die Herabregulierung des Transkriptionsfaktors PDX-1 (*pancreatic duodenal homeobox-1*) soll für eine Abnahme der Betazellzahl verantwortlich sein, da PDX-1 essentiell für die normale Betazellendifferenzierung ist (74). Es bleibt unklar, ob Patienten mit T2DM bereits von Beginn an weniger Betazellen haben, ob ein Betazellverlust eine Folge von andauernd hohen Blutglukosekonzentrationen (Glukosetoxizität, Kapitel 1.6.3) ist und wie viele Betazellen gebraucht werden, um normale Blutglukosespiegel aufrechtzuerhalten. Eine Reduktion der Betazellmasse um die Hälfte hatte in Experimenten kaum Auswirkungen auf die Blutglukoseregulation (75).

Obwohl der Verlust der Betazellen eine wichtige Rolle im Verlauf des T2DM spielt, sind funktionelle Störungen der Insulinsekretion ebenso relevant. Schon bevor sich T2DM klinisch manifestiert, kann eine Betazell dysfunktion beobachtet werden, die im Krankheitsverlauf immer weiter zunimmt und schließlich zum Betazellversagen führt (76). Die erste, schnelle Phase der Insulinsekretion als Reaktion auf einen oralen Glukosestimulus ist bereits bei Patienten mit IFG und/oder IGT gestört. Die zweite, langsame Phase ist dagegen bei Patienten mit IFG noch erhalten und nimmt nur bei Patienten mit IGT ab (77, 78). Wenn T2DM diagnostiziert wird, ist die erste Phase der Insulinsekretion schon stark reduziert bis aufgehoben. Schwere Störungen der zweiten Phase sind ebenfalls zu beobachten (79). In einer Studie an adipösen Jugendlichen mit T2DM, IGT und NGT war die erste Phase bei T2DM um 70% im Vergleich zu NGT und um 40% im Vergleich zu IGT reduziert. Die zweite Phase nahm bei T2DM im Vergleich zu NGT um 40% ab, aber war bei IGT noch erhalten (80). Das Fehlen der ersten Phase der Insulinsekretion und die verminderte Suppression der Glukoneogenese in der Leber wirken sich insbesondere auf die Erhöhung der postprandialen Blutglukosespiegel aus. Weiterhin ist auch die Pulsatilität der Insulinsekretion bei T2DM beeinträchtigt. Sowohl eine verminderte Frequenz der Insulinpulse als auch eine geringere Amplitude ließen sich bei Patienten mit T2DM nachweisen (81). Ob nur die Insulinsekretionsstörung oder doch ein Betazellverlust maßgeblich für die Manifestation des T2DM sind, bleibt eine offene Frage.

1.6.3 Glukose- und Lipotoxizität

Die Hyperglykämie wirkt sich bei T2DM negativ auf die Betazellfunktion aus. Dieses Phänomen wird als Glukosetoxizität beschrieben (82). Die Betazellsensitivität für Glukose nimmt bei T2DM ab, denn chronisch hohe Blutglukosekonzentrationen desensibilisieren die Betazellen gegenüber Glukose (83). Werden wieder normale Glukosespiegel erreicht, kann die Betazelle sich erholen und wieder adäquat auf einen Glukosestimulus reagieren (84). *In-vivo*-Experimente an Ratten wiesen bei Hyperglykämie eine verminderte Genexpression von Insulin nach, so dass Insulingehalt und Insulinsekretion verringert waren (85). Der Defekt in der Genexpression von Insulin wird durch einen Verlust von mindestens zwei Proteinen verursacht: PDX-1 und MafA (*musculoaponeurotic fibrosarcoma protein A*). PDX-1 und MafA sind Transkriptionsfaktoren, die für die Aktivierung des Insulin-Promoters und die Prozessierung der Insulin-mRNA wichtig sind (86). Chronische Hyperglykämie verursacht eine gesteigerte Produktion von Sauerstoffradikalen (*reactive oxygen species*, ROS), die in den Betazellen akkumulieren und für oxidativen Stress sorgen. Dies ist für die Betazellen besonders gefährlich, da sie nur wenige antioxidative Enzyme besitzen (87). ROS schaden PDX-1 und MafA (88) (Abb. 4).

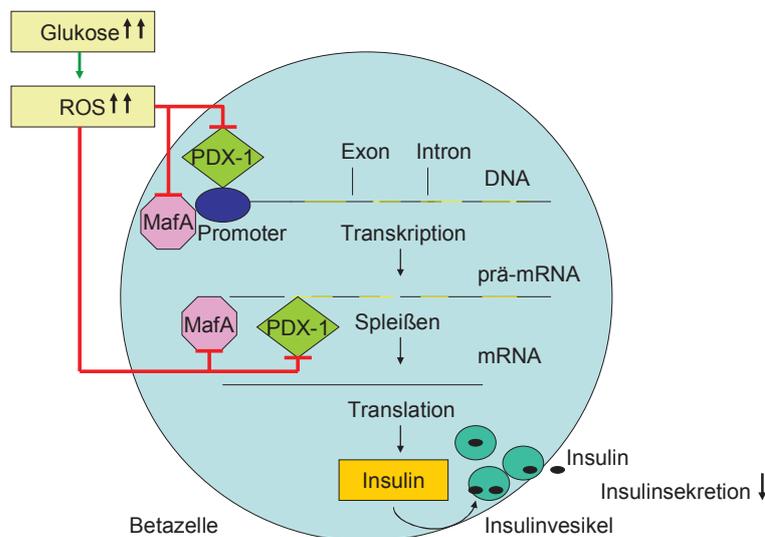


Abb. 4: Hyperglykämie als Ursache für einen Defekt in der Genexpression von Insulin. ROS= *reactive oxygen species* (reaktive Sauerstoffverbindungen).

Analog zur Glukosetoxizität ist das Phänomen Lipotoxizität zu beschreiben. Da T2DM oft mit Übergewicht und Hyperlipidämie assoziiert ist, wurde untersucht, ob hohe Konzentrationen von FFS oder anderen Lipiden im Blut die Betazellfunktion beeinträchtigen (89). Obwohl FFS physiologische Brennstoffe für die Betazelle sind und die Insulinsekretion stimulieren können, haben anhaltend hohe FFS-Konzentrationen einen schädlichen Einfluss auf die Insulinsekretion

(90). In *in-vitro*-Beobachtungen aktivierten FFS die Expression von UCP-2 (*Uncoupling protein-2*) in Betazellen. Da die Insulinsekretion von der Produktion von ATP im Glukosestoffwechsel abhängig ist, wird die Freisetzung von Insulin durch die Entkopplung der Atmungskette und ATP-Synthese durch UCP2 reduziert (91, 92) (Abb. 5). Eine Überexpression von UCP-2 veränderte die Insulinsekretion im Mausmodell und in Betazelllinien nicht, aber bewirkte eine geringere Produktion von ROS. Die hohe Aktivität von UCP-2 als Reaktion auf FFS ist daher eher als ein Schutzmechanismus anzusehen (93). Wenn die zirkulierenden FFS-Konzentration andauernd (72 h) erhöht sind, werden die Ca^{2+} -Kanäle in der Plasmamembran der Betazelle diffus verteilt (94). Die Betazelle hat eine geringe Dichte an Ca^{2+} -Kanälen, die an die Insulingranula gekoppelt sind. So löst auch ein nur für kurze Zeit andauernder Ca^{2+} -Einstrom die Exozytose von Insulin aus den Speichergranula aus. Geht diese Co-Lokalisation verloren, reicht der Anstieg der Ca^{2+} -Konzentration in der Nähe der Insulingranula nicht aus, um die Insulinfreisetzung ausreichend zu stimulieren. Starkes Übergewicht und fettreiche Nahrung bei Mäusen führten zu einer lang anhaltenden Inkubation der Pankreasinseln mit FFS und wirkten sich negativ auf die Insulinsekretion und die Verteilung der Ca^{2+} -Kanäle aus (95) (Abb. 5). Fettdepots innerhalb des Pankreas, der Inseln oder sogar der Betazellen können als Quelle für FFS oder Lipidmediatoren der Betazellfunktion schaden (96). Es ist jedoch nicht bewiesen, dass es eine inverse Korrelation zwischen Fettgehalt des Pankreas und Insulinsekretion gibt (97, 98).

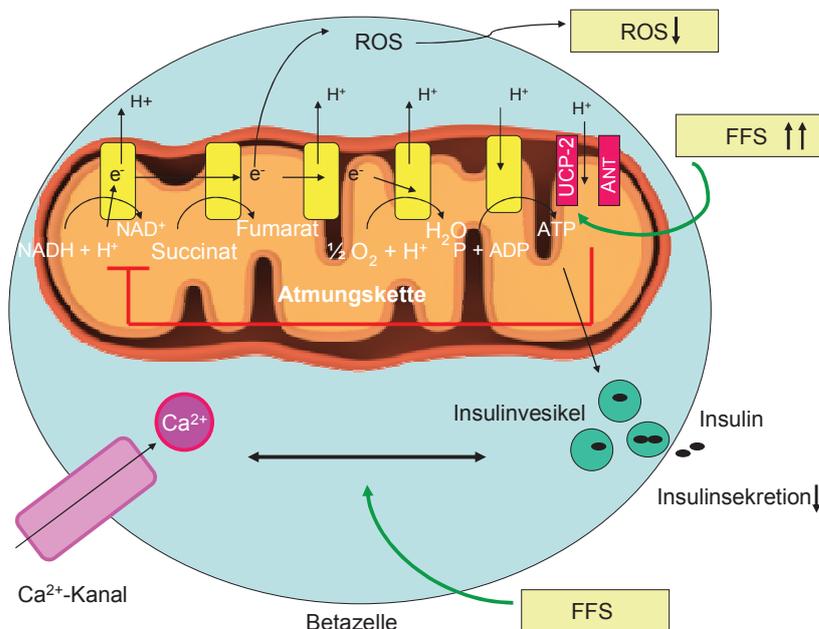


Abb. 5: Hyperlipidämie als Ursache für eine Abnahme der Insulinsekretion. Die Atmungskette und ATP-Synthese wird durch Überexpression von UCP-2 entkoppelt und die Kolokalisation von Ca^{2+} -Kanälen und Insulinvesikeln geht durch eine Umverteilung von Ca^{2+} -Kanälen verloren. ROS=reactive oxygen species (reaktive Sauerstoffverbindungen). UCP-2=*uncoupling protein-2*. ANT=Adenin-Nukleotid-Transporter. FFS=freie Fettsäuren.

1.7 Rolle der Ernährung in der Prävention und Therapie bei Typ 2 Diabetes

In epidemiologischen Studien haben Menschen, die regelmäßig rotes Fleisch essen, ein hohes Diabetesrisiko (Kapitel 1.8.1). Wer dagegen regelmäßig Ballaststoffe aus Vollkorngetreide zu sich nimmt, hat ein geringes Risiko für T2DM (Kapitel 1.8.2). Tägliches Trinken mehrerer Tassen Kaffee erwies sich ebenfalls als erfolgreich in der Diabetesprävention (Kapitel 1.8.3). Die Aufnahme von Vollkorn, Kaffee und rotem Fleisch geht deshalb auch zur Berechnung des Diabetesrisikos in den Diabetes-Risiko-Score des Deutschen Instituts für Ernährung (DifE) ein (106). Ernährungsinterventionsstudien zu den Wirkungen von Vollkorn, Kaffee und rotem Fleisch sind bei gesunden Probanden und bei Patienten mit T2DM durchgeführt worden und werden in den folgenden Subkapiteln ebenfalls dargestellt.

1.7.1 Vollkornkornprodukte

Menschen, die viele Ballaststoffe aus Vollkornprodukten zu sich nehmen, können epidemiologischen Studien zufolge das Risiko für T2DM senken. Die Auswertung der Daten von 25067 Teilnehmern der Potsdamer EPIC-Studie ergab, dass Probanden, die pro Tag 16,6 g Ballaststoffe aus Vollkornbrot oder Müsli verzehrten, ein um 28% geringeres Diabetesrisiko hatten als Probanden, die pro Tag nur 6,6 g Getreide-Ballaststoffe aufnahmen (106). Eine Metaanalyse aus neun prospektiven Kohortenstudien kam zu dem Ergebnis, dass eine hohe Zufuhr von Getreide-Ballaststoffen das Risiko für T2DM um 33% verringert. Ballaststoffe aus Obst und Gemüse scheinen in der Prävention des T2DM jedoch keine große Rolle zu spielen (107). In der Black Women's Health Study mit 59.000 schwarzen Frauen (108) und in der Multiethnic Cohort mit 75.512 ethnisch verschiedenen Probanden (109) konnte ebenfalls eine inverse Beziehung zwischen Aufnahme von Getreide-Ballaststoffen und Diabetesrisiko beobachtet werden.

Statt Weißmehlprodukten sollten immer Vollkornvarianten mit einem hohen Anteil an Getreide-Ballaststoffen bevorzugt werden. Interventionsstudien an Probanden ohne T2DM haben bewiesen, dass der Verzehr von Vollkornprodukten den Glukosestoffwechsel verbessert. Um den Effekt von Roggenbrot mit einem hohen Gehalt an Getreide-Ballaststoffen auf den Glukosestoffwechsel zu untersuchen, nahmen 20 übergewichtige, postmenopausale Frauen mit Risiko für T2DM acht Wochen lang entweder Roggenbrot oder Weißbrot zu sich. Roggenbrot erhöhte im Vergleich zu Weißbrot die AIR um 7,1%. Roggenbrot mit einem hohen Gehalt an Getreide-Ballaststoffen hat dieser Studie zufolge positive Langzeit-Effekte auf die Betazelle, da die normale Betazellantwort aufrecht erhalten oder verbessert wird (110). In einer anderen Studie

wurde bei 19 übergewichtigen, postmenopausalen Frauen nach dem Verzehr von Roggenbrot postprandial weniger Insulin zur Regulation der Blutglukosespiegel gebraucht als nach dem Verzehr von Weißbrot (111). Insgesamt 28 übergewichtige Männer hielten über vier Wochen entweder eine Diät mit nur 5 g Getreide-Ballaststoffen aus Weißmehlprodukten oder eine Diät mit 18 g Getreide-Ballaststoffen aus Roggen oder Vollkorn ein. Die postprandiale Insulinkonzentration im Blut war um 46-49% und die postprandiale Blutglukosekonzentration war um 16-19% verringert (112). In einer anderen Studie bekamen 146 Probanden mit einem hohen Risiko für T2DM nach einer zwei- bis vierwöchigen Run-in Phase für zwölf Wochen entweder Anweisungen für eine Diät mit Roggen und Vollkorn (24,3±0,9 g Getreide-Ballaststoffe) oder mit raffiniertem Getreide (10,4±0,6 g Getreide-Ballaststoffe). In der Roggen- und Vollkorngruppe gab es nach zwölf Wochen keine Änderungen der Nüchtern-Insulin- und -Glukosekonzentrationen und keine Änderungen von AIR und DI (113). Die postprandialen Insulinspiegel waren jedoch 3 h nach dem Mittagessen durch die hohe Aufnahme von Getreide-Ballaststoffen in der Roggen- und Vollkorngruppe um 29% geringer (114).

Ballaststoffe sind höhermolekulare Kohlenhydrate, die in Magen und Dünndarm nicht abgebaut werden. Es werden wasserlösliche und wasserunlösliche Ballaststoffe unterschieden. Reichhaltige Quellen für lösliche Getreide-Ballaststoffe sind Hafer und Gerste. Unlösliche Getreide-Ballaststoffe kommen in Vollkornweizen, Mais und Reis vor. Lösliche Ballaststoffe wirken als Quellstoffe, da sie viel Wasser in Magen und Darm binden. Sie verzögern die Magenentleerung und die Resorption von Glukose, so dass die Blutglukosekonzentration nur langsam ansteigt und Blutglukosespitzen vermieden werden. Die Betazellen müssen weniger Insulin ausschütten und werden entlastet (115). Lösliche Ballaststoffe scheinen aber keinen Einfluss auf das Diabetesrisiko zu haben (116). Unlösliche Ballaststoffe sind dagegen mit einem geringeren Diabetesrisiko assoziiert (117, 118). So sollen unlösliche Getreide-Ballaststoffe unabhängig von Gewichtsveränderungen die Insulinsensitivität verbessern, die Freisetzung von Gastrointestinal (z.B. Ghrelin, Neuropeptid Y, GIP) - und Fettgewebshormonen (z.B. Adiponektin) fördern und proinflammatorische Marker reduzieren (118). Außerdem beeinflussen Getreide-Ballaststoffe die Bakterienflora im Darm und so die Produktion von kurzkettigen FFS (118). Um herausfinden, ob sich der schützende Effekt von unlöslichen Ballaststoffen auf eine günstige Beeinflussung des Glukosestoffwechsels zurückführen lässt, wurden in einer Interventionsstudie die Blutglukose- und Insulinkonzentrationen von 14 gesunden jungen Frauen untersucht, die Brot mit bzw. ohne lösliche Ballaststoffe zu sich nahmen. Direkt nach dem Verzehr von Brot mit unlöslichen Ballaststoffen kam es im Vergleich zur Kontrollgruppe zu

einer beschleunigten ersten Phase der Insulinsekretion, die mit einem früheren postprandialen Anstieg von GIP assoziiert war. Die zweite Phase der Insulinsekretion hatte dagegen leicht abgenommen (119).

Interventionsstudien zu den Auswirkungen einer hohen Ballaststoffaufnahme auf den Glukosestoffwechsel sind auch bei Probanden mit T2DM durchgeführt worden. Bei 13 Probanden mit T2DM und einem BMI von $32.3 \pm 3.9 \text{ kg/m}^2$ wurde die Wirkung einer Diät reich an Ballaststoffen aus Getreide, Hülsenfrüchten, Obst und Gemüse untersucht. Die Probanden hielten in einer *Crossover*-Studie eine sechswöchige Diät mit moderatem Ballaststoffgehalt (24g: 8 g lösliche und 16 g unlösliche Ballaststoffe) oder mit hohem Ballaststoffgehalt (50g: 25 g lösliche und 25 g unlösliche Ballaststoffe) ein. Nach sechs Wochen war die mittlere Plasma-Glukosekonzentration in der Interventionsgruppe, die sich ballaststoffreich ernährte, um 8,9% geringer als in der Interventionsgruppe, die nur moderate Mengen an Ballaststoffen aufnahm. Auch die täglichen Plasmakonzentrationen von Glukose und Insulin waren bei den Probanden mit der ballaststoffreichen Diät um 10% bzw. um 12% geringer als bei denjenigen mit der ballaststoffmoderaten Diät. Eine hohe Zufuhr an löslichen Ballaststoffen verbesserte hier bei Patienten mit T2DM die Kontrolle des Blutglukosestoffwechsels und senkte die Hyperinsulinämie (120). Die Aufnahme von Vollkorn in Kombination mit Hülsenfrüchten reduzierte bei Patienten mit T2DM und koronarer Herzkrankheit in einer randomisierten, kontrollierten Studie die Nüchtern-Glukosekonzentrationen im Plasma und die Fläche unter der Kurve (*area under the curve*, AUC) für die Glukosespiegel im OGTT. Die Betazellfunktion verbesserte sich jedoch nur bei KHK-Patienten ohne T2DM (121). In einer *Crossover*-Studie bei 23 Probanden mit T2DM gab es keinen Effekt von Getreide-Ballaststoffen aus Weizenkleie auf den Glukosestoffwechsel. Die Probanden nahmen drei Monate lang zusätzlich 19 g bzw. 4 g Getreide-Ballaststoffe aus Weizenkleie in Form von Brot oder Müsli zu sich (122).

Zusammengefasst wirkt sich eine hohe Ballaststoffaufnahme in Interventionsstudien günstig auf den Glukosestoffwechsel aus. Insbesondere der Verzehr von Ballaststoffen aus Vollkorngetreide hat positive Effekte. Jedoch liegen nur wenige Daten zum Einfluss von Getreide-Ballaststoffen bei T2DM vor. Auch ist bisher nicht ausreichend untersucht, wie sich eine Ernährung reich an Getreide-Ballaststoffen auf die Insulinsekretion der Betazellen auswirkt.

1.7.2 Kaffee

Kaffeegenuss ist in epidemiologischen Studien mit geringerer Wahrscheinlichkeit assoziiert, an T2DM zu erkranken (123). In einer prospektiven Kohortenstudie mit 117.111 Männern und Frauen war das Diabetesrisiko umso geringer, je mehr Kaffee täglich getrunken wird. Personen, die täglich sieben oder mehr Tassen Kaffee tranken, hatten ein um 50% geringeres relatives Diabetesrisiko gegenüber Personen, die täglich zwei oder weniger Tassen Kaffee tranken (124). Im Rahmen der Hoorn Studie wurde bei 2.280 holländischen Frauen und Männern mittels eines Fragebogens der tägliche Kaffeekonsum erfasst und OGTTs durchgeführt. Wer mindestens fünf Tassen Kaffee täglich trank, hatte im Mittel 0,8% geringere Nüchtern-Glukosekonzentrationen und im OGTT 8,8% geringere 2-h-Glukosekonzentrationen und 19,7% geringere 2-h-Insulinkonzentrationen. Regelmäßiger Kaffeegenuss wirkt sich daher vor allem günstig auf den postprandialen Glukosestoffwechsel aus, aber hat nur wenig Einfluss auf die Nüchtern-Glukosespiegel (125). Im Rahmen der FINRISK Studie wurde bei 2.434 Probanden mit NGT, IFG und/oder IGT ein ähnliches Studiendesign angewandt. Regelmäßiger Kaffeekonsum verbesserte hier nicht nur die 2-h-Glukosekonzentrationen, sondern auch die Nüchtern-Glukose- und -Insulinkonzentrationen (126). Wer täglich mehr als eine Tasse Kaffee trank, wies um 29 mg/dl geringere Nüchtern-Glukosespiegel, um 116 mg/dl geringere 2-h-Glukosespiegel und um 0,24 μ U/ml geringere Nüchtern-Insulinspiegel auf. Retrospektiv wurde auch bei 936 Männern im Alter von 69 bis 74 Jahren der Effekt von Kaffee auf die Betazellfunktion untersucht. Regelmäßiges Kaffeetrinken beeinflusste hier die erste Phase der Insulinsekretion im OGTT nicht (127).

Trotz zahlreicher epidemiologischer Analysen, wurden bisher nur wenige mehrwöchige Interventionsstudien zu Kaffeekonsum und Glukosestoffwechsel durchgeführt. Die Insulinsekretion wurde dabei kaum untersucht. In einer randomisierten Crossover-Studie mit 26 gesunden Probanden, die vier Wochen lang täglich einen Liter Kaffee tranken, veränderten sich die Nüchtern-Glukosekonzentrationen im Blut nicht. Die Nüchtern-Insulinkonzentrationen stiegen dagegen an (128). Einigen Studien zufolge kann Koffein im Kaffee die Insulinsensitivität sogar vorübergehend verringern (129, 130). Aber auch Kaffee ohne Koffein verschlechterte den Glukosestoffwechsel. So waren die Glukose- und Insulinkonzentrationen im OGTT bei elf jungen und gesunden Männern eine Stunde nach dem Trinken von Kaffee ohne Koffein höher als nach dem Trinken eines Placebo-Getränks (131). Dagegen erhöhte regelmäßiges Trinken von Kaffee mit Koffein die Insulinsensitivität in einer Studie an 954 Männern und Frauen ohne T2DM. Kaffee ohne Koffein hatte in dieser multi-ethnischen Kohorte einen positiven Einfluss

auf die Betazellfunktion, da eine verstärkte erste Phase der Insulinsekretion sowie ein verbessertes Pro-Insulin-/C-Peptid-Verhältnis beobachtet wurde (132). Aber nicht nur Koffein, sondern auch andere Inhaltsstoffe im Kaffee, wie Chlorogensäuren, Magnesium und Lignane, können die Insulinsekretion und Insulinsensitivität beeinflussen (Tabelle 3) (133).

Tabelle 3. Inhaltsstoffe im Kaffee mit Wirkung auf Insulinsekretion und Insulinsensitivität (modifiziert nach (133))

| | Insulinsekretion | Insulinsensitivität |
|-----------------|--|---|
| Koffein | <ul style="list-style-type: none"> ○ Expression UCPs ↑ im Mausmodell ○ Schutz der Betazellen vor oxidativem Stress | <ul style="list-style-type: none"> ○ Glukosespeicherung ↓ durch Adrenalinausschüttung und Adenosinrezeptor-Antagonismus ○ Oxidation von Lipiden ↑ |
| Chlorogensäuren | <ul style="list-style-type: none"> ○ Sekretion von GLP-1 ↑ ○ Schutz der Betazellen vor oxidativem Stress | <ul style="list-style-type: none"> ○ Glukosefreisetzung aus Leber ↓ ○ Glukoseabsorption im Dünndarm ↓ ○ Glukosetransport in den Skelettmuskel ↑ ○ Glukosetoleranz ↑ im Rattenmodell |
| Magnesium | | <ul style="list-style-type: none"> ○ Cofaktor für Enzyme des Glukosestoffwechsels ○ Aktivität des Insulinrezeptors ↑ |
| Lignane | <ul style="list-style-type: none"> ○ Schutz der Betazellen vor oxidativem Stress | |

Bei Patienten mit T2DM ist ebenfalls der Einfluss von Kaffee auf den Glukosestoffwechsel in Interventionsstudien untersucht worden. Zur Insulinsekretion liegen aber keine Daten vor. In einer Studie an 20 Probanden mit T2DM ließ Koffein im Kaffee die Plasmaglukose- und Insulinspiegel im Vergleich zu Kaffee ohne Koffein ansteigen (134). 18 Patienten mit T2DM, die regelmäßig Kaffee tranken, nahmen an einer *Crossover*-Studie zum Einfluss eines „doppelten Espresso“ auf den Glukosestoffwechsel teil. Die Probanden hatten nach dem Trinken des „doppelten Espresso“ im OGTT deutlich höhere Glukosekonzentrationen im Blut als nach dem Trinken von entkoffeiniertem Kaffee oder heißem Wasser. Die Insulinkonzentrationen unterschieden sich dagegen nicht (135). Es liegen noch keine mehrwöchigen Interventionsstudien vor, die den Einfluss von Kaffee bei T2DM untersuchen.

1.7.3 Rotes Fleisch

Ein hohes Diabetesrisiko haben in epidemiologischen Studien Menschen, die oft rotes Fleisch von Rind, Lamm oder Schwein essen (136). Schon der tägliche Verzehr von 100 g Steak soll das Risiko für T2DM um 19% erhöhen. Besonders deutlich ist der Zusammenhang zwischen Fleischverzehr und Diabetesrisiko beim Konsum von verarbeiteten Fleisch- und Wurstwaren wie Salami, Schinken und Würstchen. Bei einem täglichen Verzehr von 50 g Wurst soll das Diabetesrisiko um 51% ansteigen (137). In einer prospektiven Kohortenstudie an 66.118 französischen Frauen wurde nur für den Verzehr von verarbeiteten Fleisch- und Wurstwaren ein um 29% erhöhtes Risiko für T2DM nachgewiesen (138).

Verschiedene Mechanismen versuchen zu erklären, warum rotes Fleisch das Diabetesrisiko erhöht. Menschen, die oft rotes Fleisch essen, nehmen auch viel Eisen auf. Eisen katalysiert zelluläre Reaktionen, die zur Bildung von ROS führen und daher den oxidativen Stress in den Zellen verstärken. Insbesondere die insulinproduzierenden Betazellen werden geschädigt (139). Stark verarbeitetes Fleisch hat einen hohen Gehalt an Nitrat und Nitrit, die im Magen zu Nitrosaminen umgewandelt werden können. Nitrosamine wirken in Tierversuchen toxisch auf die Betazellen (140) und beeinträchtigen auch beim Menschen die Betazellantwort (141). Ferner sind besonders in rotem Fleisch gesättigte Fettsäuren und trans-Fettsäuren enthalten, die das Risiko für T2DM erhöhen sollen (142, 143). Die Datenlage zum Einfluss verschiedener Fettsäuren auf das Diabetesrisiko ist jedoch uneinheitlich (144). Menschen, die viel rotes Fleisch verzehren, neigen auch eher zu Übergewicht und Adipositas, die nachweislich das Risiko für T2DM erhöhen (145).

In einer randomisierten, kontrollierten Studie an 17 Patienten mit T2DM verbesserte sich nach einem vierwöchigen Ersatz von rotem Fleisch durch Geflügel die Zusammensetzung der FFS im Plasma (146). Geflügel hat einen geringeren Gehalt an gesättigten Fettsäuren und einen höheren Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren als rotes Fleisch. Unklar ist, welchen Effekt der Austausch von rotem Fleisch durch Geflügel auf die Insulinsekretion und den Glukosestoffwechsel bei T2DM hat.

2 Ziele der Arbeit

Diese Arbeit soll im Rahmen der DDIET-Studie klären, ob eine achtwöchige moderat kalorienreduzierte Ernährungsmodifikation mit Vollkorn, Kaffee und Verzicht auf rotes Fleisch bei übergewichtigen Probanden mit T2DM die Insulinsekretion verbessert.

Ziele der Arbeit sollen sein zu untersuchen,

1. wie sich eine achtwöchige moderat kalorienreduzierte Ernährungsintervention jeweils in der H-RISK Gruppe („high risk“, „hohes Risiko“: rotes Fleisch, kein Kaffee, kein Vollkorn) und in der L-RISK Gruppe („low risk“, „niedriges Risiko“: Kaffee, Vollkorn, kein rotes Fleisch) auf die Insulinsekretion im MMTT, IVGTT und GST auswirkt.
2. ob sich die Insulinsekretion in der L-RISK Gruppe im Vergleich zur H-RISK Gruppe nach acht Wochen Ernährungsintervention verbessert hat?

3 Materialien und Methoden

3.1 Materialien

Im Rahmen der DDIET-Studie wurden für die Screening-Untersuchung, die Visiten vor und während der Ernährungsintervention und die Betazellfunktionstests (MMTT, IVGTT und GST) an den Untersuchungstagen folgende Materialien verwendet:

3.1.1 Infusions- und Nährlösungen und Arzneimittel

- Standardisierte Flüssigmahlzeit (Boost[®] High Protein Complete Nutritional Drink, 1 Flasche á 237 ml, Nestlé HealthCare Nutrition, Vevey, Schweiz)
- 20%ige Glukoselösung (Glucose 20 %, 100 ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
- 40%ige Glukoselösung (Glucose 40 %, 100 ml, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)
- D-(6,6-²H₂) Glukoselösung (2,5 ml = 1 g D-(6,6-²H₂) Glukose, Profil Institut für Stoffwechselforschung GmbH, Neuss, Deutschland)
- Isotonische Natriumchloridlösung 0,9 % (Isotonische Kochsalzlösung Fresenius, 500 ml, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland)
- Glukagon (GlukaGen[®] HypoKit[™], 1 mg (1 IE) Glucagonhydrochlorid (rDNS), NovoNordisk Pharma AG, Küssnacht ZH, Schweiz)
- Wasser für Injektionszwecke (Aqua Mini-Plasco[®] Connect, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland)

3.1.2 Verbrauchsmaterialien

- Serum-Röhrchen (BD Vacutainer[®] SST[™] II Advance Plus Collection Blood Tubes, REF 367955, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- EDTA Blutbild-Röhrchen (BD Vacutainer[®] K2E 5,4 mg, Plus Blood Collection Tubes, REF 368499, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Citrat-Röhrchen (BD Vacutainer[®] 9NCO.129M, REF 353079, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Inkretin-Röhrchen (BD Vacutainer[®] P700, REF 366473, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)

- Urin-Röhrchen (BD Vacutainer[®], REF 364915, BD Vacutainer Systems Preanalytik Solutions, Franklin Lakes, USA)
- Urin-Transfereinheit (Vacutainer[®], REF 364940, BD Vacutainer Systems Preanalytik Solutions, Franklin Lakes, USA)
- Sterile Urinbecher mit Schraubverschluss (Sarstedt[®], 100 ml, REF 75.562.105, Sarstedt AG und Co. Medizin, Nürmbrecht, Deutschland)
- Weithalsflaschen mit Schraubverschluss (Nalgene[®], 2000 ml, REF 215-7361, Nalge Nunc International Corporation, NY, USA)
- Trinkbecher (Premium Line 500 cc, No. 100003105, RPC Tedeco-Gizeh GmbH, Offenburg Deutschland)
- Sicherheitsvenenpunktionsbesteck (Venofix[®] Safety, G21, REF 4056520-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Sicherheitsvenenpunktionsbesteck (Venofix[®] Safety, G23, REF 4056510-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Sicherheitsvenenpunktionsbesteck (Venofix[®] Safety, G25, REF 4056500-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- One-use, non-stackable needle holder (BD Vacutainer[®], REF 364815, BD Vacutainer Systems Preanalytik Solutions, Franklin Lakes, USA)
- Multi sample Luer Adapter (BD Vacutainer[®], REF 367300, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Sicherheitsvenenverweilkanülen (Vasofix[®] Safety, 18G, REF 4268130S-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Sicherheitsvenenverweilkanülen (Vasofix[®] Safety, 20G, REF 4268113S-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Sicherheitsvenenverweilkanülen (Vasofix[®] Safety, 22G, REF 4268091S-01, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)

- Pflaster Venenverweilkanüle (APPLICA I.V., REF 66047717 Smith & Nephew Medical, Hull, England)
- Pflasterrolle (Leukofix[®], 2,5 cm x 9,2 m, REF 46834-00, BSN Medica GmbH, Hamburg, Deutschland)
- Drei-Wege-Hähne (3-way-stopcock[®], Fresenius Kabi AG, REF 8501722, Bad Homburg, Deutschland)
- Verschluss Drei-Wege-Hahn (Combi Stopper[®], REF 4495101, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Blutlanzetten (Kendall Monoject[™] Monolet Lancets, REF 602018, Tyco/Healthcare, Gosport, UK)
- Spritzen 1/2/5/10 ml (Injekt[®] Luer Solo, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland, REF 1 ml 9166017V, REF 2 ml 4606027V, REF 5 ml 4606051V, REF 10 ml 4606108V)
- Blutzuckermessgefäße (Glucose-/Lactat-Hämolyselösung, REF 0209-0100-012, EKF Diagnostik GmbH, Barleben/Magdeburg, Deutschland)
- 20 µl-Kapillare (20 µl, Natrium-heparinisiert, EKF Diagnostik GmbH, Barleben/Magdeburg, Deutschland)
- Zelluloseputzer (Maicell[®] 4x5 cm, REF 72100, MaiMed[®] Medical, MaiMed GmbH & Co KG, Neuenkirchen, Deutschland)
- Handschuhe (MaiMed[®]-sensitiv, REF 74185, MaiMed[®] Medical, MaiMed GmbH & Co KG, Neuenkirchen, Deutschland)
- Desinfektionsspray (Cutasept[®] F, REF 976802, Bode Chemie Hamburg, Deutschland)
- Händedesinfektionsmittel (Manusept[®] Basic, REF 975612, Bode Chemie Hamburg, Deutschland)
- Kanülensammler (Sarstedt[®] MultiSafe, Nürnbrecht, Deutschland)
- Infusionsbesteck (Infudrop[®], REF 2886312, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland)

- Infusomatleitung (Original Infusomat[®] -Leitung, REF 8700036T, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Perfusorleitung (Original Perfusor[®] -Leitung, REF 872269/0, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Perfusorspritze (Original Perfusor[®] Spritze OPS, 50 ml Luer Lock, REF 8728810F, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Kryotubes für Blutproben (Cryovial[®] 2,0 ml, frei stehend, steril, Art.Nr. 710513, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Kryotubes für Blutproben (Cryovial[®] 1,2 ml, frei stehend, steril, Art.Nr. 710511, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Probenröhrchen (1,5 ml, farblos, frei stehend, für Schraubenverschlüsse, Art.Nr. 710020, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Cap-Insert für Biozym Cryovials, rot (Art.Nr. 710533, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Cap-Insert für Biozym Cryovials, gelb (Art.Nr. 710534, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Schraubverschluss für Probenröhrchen, violett (Art.Nr. 710716, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Schraubverschluss für Probenröhrchen, gelb (Art.Nr. 710714, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Schraubverschluss für Probenröhrchen, grün (Art.Nr. 710033, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Schraubverschluss für Probenröhrchen, blau (Art.Nr. 710716, Biozym Scientific GmbH, Hess, Oldendorf, Deutschland)
- Zeitmesser (Mesotron Quartz, Hanhart AG, Diessenhofen, Schweiz)

- Fragebogen zur Erhebung der physischen Aktivität (International physical activity questionnaire IPAQ, Oktober 2002, Selbstausfüller Lang-Version für die vergangenen 7 Tage [www.ipaq.ki.se], IPAQ Gruppe, Genf, Schweiz)

3.1.3 Geräte

- Blutglukosemessgerät (EKF Biosen C_line, EKF Diagnostik GmbH, Barleben, Magdeburg, Deutschland)
- Design Küchenwaage (KS65, Beurer GmbH, Ulm, Deutschland)
- EKG-Gerät (MACTM 1600, GE Medical Systems, Information Technologic GmbH, Freiburg, Deutschland)
- Blutdruckmessgerät (OMRON 705 IT, REF 40 15672 10146, OMRON Medizintechnik, Mannheim, Deutschland)
- Personenwaage (seca[®] Modell 920, Fabr. Nr. 905740, seca AG, Reinach, Schweiz)
- Infusomat (Infusomat[®] fm, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Perfusor (Perfusor[®] compact, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Notebook (DELL Latitude E6500, Dell GmbH, Frankfurt, Deutschland)
- Drucker (hp Laserjet CPI525n color, Hewlett-Packard GmbH, Böblingen, Deutschland)
- Microsoft Office (Microsoft[®], Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)
- GraphPad Prism Version 6 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)
- Ernährungssoftware (PRODI[®] 5.8, Nutri-Science GmbH, Hausach, Deutschland)
- Schrittzähler und Software (MyWellness Key[®], Technogym Wellness & Biomedical GmbH, Egelsbach, Deutschland)
- Zentrifuge (Sigma 3K12, B. Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Gefrierschrank (Liebherr Comfort, -20°C und -80°C, Liebherr International AG, Bulle, Schweiz)

- Immunoassay Analyseautomat (IMMULITE[®] 2000, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Hessen, Deutschland)
- Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Total ELISA 96-Well Plate Assay, Merck Millipore, St. Charles, Missouri, USA)

3.2 Methoden

Die Methoden umfassten das Prüfen der Eignungskriterien vor dem Einschluss der Probanden in die Studie, das Durchführen der Ernährungsintervention mit wöchentlichen Diät-Einhaltungskontrollen sowie das Untersuchen der Insulinsekretion vor und nach der Ernährungsintervention mit anschließender Auswertung.

3.2.1 Studiendesign

Am 14.02.2011 erteilte die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf die Genehmigung für die DDIET-Studie (Studiennummer 3521). In dieser klinisch-offenen, prospektiven, kontrollierten, randomisierten und multizentrischen Studie wurde die Wirkung von zwei Ernährungsinterventionen (H-RISK und L-RISK) bei Patienten mit T2DM nach acht Wochen Intervention untersucht (Registrierung unter Clinicaltrials.gov NCT01409330).

3.2.2 Rekrutierung und Probandenkollektiv

Probanden wurden durch die Darstellung der Studie im Internet, über Inserate in Zeitungen, öffentliche Aushänge und Flyer sowie über niedergelassene Ärzte auf die DDIET-Studie aufmerksam. Zudem wurden Probanden der GDC-Studie (German Diabetes Center) in die DDIET-Studie eingeschlossen.

Für die DDIET-Studie wurden Patienten mit T2DM im Alter zwischen 18 und 69 Jahren mit maximal fünf Jahren Erkrankungsdauer, einem BMI ab 30 kg/m² und einem HbA1c-Wert zwischen 5,5% und 9% gesucht. Nur Probanden, bei denen die Kontrolle des T2DM durch Diät und/oder Therapie mit Metformin und/oder Acarbose erfolgte, kamen als Studienteilnehmer in Frage (147). Ausschlusskriterien waren alle Begleiterscheinungen, die Insulinsekretion und Insulinsensitivität direkt beeinflussen. Außerdem war Probanden mit Unverträglichkeit gegen die Hauptbestandteile der Ernährungsintervention wie Kaffee oder Vollkorn und Non-Compliance mit den Studienbedingungen eine Teilnahme an der DDIET-Studie nicht erlaubt (Tabelle 4).

Tabelle 4. Ein- und Ausschlusskriterien

| | |
|---------------------|--|
| Einschlusskriterien | Diagnose T2DM \leq fünf Jahre Alter \geq 18 und \leq 69 Jahren BMI \geq 30 kg/m ² HbA1c \geq 5,5 und \leq 9,0% Diät / Metformin / Acarbose |
| Ausschlusskriterien | Orale Medikamente zur Therapie von T2DM außer Metformin / Acarbose Insulintherapie Sekundärer Diabetes mellitus Akute Entzündung / Infektion Autoimmunerkrankungen / Einnahme von Immunmodulatoren/ Immunsuppression Einnahme von Plättchenaggregationshemmern / Gerinnungshemmern Einnahme von nicht-steroidalen Antirheumatika (NSAR) Einnahme von Anabolika Psychiatrische Erkrankungen / Suchterkrankungen/ Einnahme von Psychopharmaka Maligne Erkrankungen Chronische Niereninsuffizienz / Chronische Herzinsuffizienz Magen-Darm-Erkrankungen Gicht HIV / AIDS Anämie / Leukopenie / Thrombozytopenie Schwangerschaft Unverträglichkeit gegen Hauptbestandteile der Diät wie Kaffee oder Vollkorn Non-Compliance mit Studienbedingungen |

Potenzielle Probanden mit Interesse an einer Studienteilnahme erhielten die Patienteninformation zur DDIET-Studie per Post oder per E-Mail und eine Einladung zum Screening. Beim Screening wurden dem potenziellen Probanden noch einmal Ablauf und Ziel der Studie erläutert. Krankengeschichte und aktuelle Medikation wurden erhoben und die ärztliche körperliche Untersuchung durchgeführt. Zudem wurden dem potenziellen Probanden Blutproben entnommen, um klinisch-chemische Laborparameter zu messen (Tabelle 5). Blutdruck (mm/Hg),

Körpergewicht (kg), Körpergröße (cm), Taillen- und Hüftumfang (cm) und BMI (kg/m²) wurden ebenfalls bestimmt. Zum Ausschluss einer diabetischen Nephropathie wurde der Spontanurin des potenziellen Probanden auf eine Mikroalbuminurie (mg/l) untersucht. Zusätzlich wurde ein 12-Kanal-Elektrokardiogramm geschrieben.

Tabelle 5. Blutabnahme zur Bestimmung der Screening-Laborparameter. EDTA= Ethylendiamintetraacetat, LDL= *low density lipoprotein*. HDL= *high density lipoprotein*, TAG= Triglyzeride, AST= Aspartat-Aminotransferase, ALT= Alanin-Aminotransferase, γ -GT= Gamma-Glutamyltransferase, AP= Alkalische Phosphatase, LDH= Laktatdehydrogenase, CK= Kreatinkinase, TSH= Thyreotropin, fT4= freies Tyroxin, KBB= kleines Blutbild, aPTT= aktivierte partielle Thromboplastinzeit

| Blutabnahme für den Parameter | Zahl der Röhrchen x ml | Klinisch-chemische Laborparameter |
|-------------------------------|------------------------|--|
| Serum | 2 x 5,0 | Gesamt-Cholesterin, LDL - und HDL -Cholesterin, TAG, Kreatinin, AST, ALT, γ -GT, AP, LDH, CK, Gesamt-Bilirubin, Harnstoff, Harnsäure, Gesamt-Eiweiß, CH-E, Lipase, hs CRP, Gesamt-Amylase, Ferritin, TSH, fT4, Glukose, Na ⁺ , K ⁺ , Cl ⁻ , Ca ²⁺ , Fe ²⁺ , Mg ²⁺ |
| EDTA | 1 x 3,0 | KBB, HbA1c |
| Citrat | 1 x 3,0 | Quick, aPTT |

Erfüllte ein Proband alle Einschlusskriterien und kein Ausschlusskriterium, konnte er an der Studie teilnehmen. Die Randomisierung zur H-RISK und L-RISK Gruppe erfolgte zentral im DDZ in Düsseldorf anhand einer vorher für jedes kooperierende Zentrum festgelegten Block-Randomisierungsliste. Jedem neu eingeschlossenen Probanden wurde unmittelbar der nächste Gruppencode (H-RISK oder L-RISK) auf der Randomisierungsliste des jeweiligen Blocks zugewiesen. Zwischen Screening und Studienbeginn durften nicht mehr als vier Wochen liegen.

3.2.3 Studienintervention und Studienablauf

In der DDIET-Studie wurde die Wirkung einer getreideballaststoff- und kaffeereichen Ernährung im Vergleich zu einer fleischreichen, aber getreideballaststoffarmen und koffeefreien Ernährung auf die Insulinsekretion und Insulinwirkung bei T2DM untersucht. Die Dauer der Ernährungsintervention betrug acht Wochen und die Studiengesamtzeit inklusive einer zwei- bis vierwöchigen *Run-in* Phase zehn bis zwölf Wochen. Der Studienablauf sah drei Untersuchungstage vor Beginn und nach Abschluss der Ernährungsintervention vor.

Vor Beginn der Ernährungsintervention wurden Diät-Tagespläne erstellt, die in beiden Gruppen auf dem Diabetes-Risiko-Score des DfE basierten (106, Anlage 1) und die Empfehlungen für Diabetesernährung (148) und Adipositas therapie (149) berücksichtigten. Die H-RISK Gruppe bekam Anweisungen zum täglichen Verzehr von mindestens 150 g rotem Fleisch unter Verzicht auf Vollkorn und Kaffee. Die L-RISK Gruppe nahm täglich 30-50 g Getreide-Ballaststoffe und fünf Tassen Kaffee zu sich. Im Diabetes-Risiko-Score gehen diese Portionen mit einem geringen Risiko für T2DM einher (106, Anlage 1). Rotes Fleisch war in der L-RISK Gruppe nicht erlaubt und wurde durch Geflügel oder Fisch ersetzt. Die tägliche Kalorienzufuhr wurde sowohl in der H-RISK als auch in der L-RISK Gruppe um 300 kcal im Vergleich zur bisherigen individuellen Tageskalorienzufuhr reduziert. Kohlenhydrate lieferten während der Diät 50%, Fett 30% und Eiweiß 20% der täglichen Gesamtenergie (148).

In der *Run-in* Phase dokumentierten die Probanden in Ernährungstagebüchern die bisherige Aufnahme von Kalorien (in kcal), Makronährstoffen (in %), Getreide-Ballaststoffen (in g) und rotem Fleisch (in g). Die *Run-in* Phase sollte sicherstellen, dass das Gewicht der Probanden und das Ausmaß an körperlicher Aktivität vor Beginn der Ernährungsintervention konstant blieben. Die Ernährungstagebücher aus der *Run-in* Phase und die Diät-Tagespläne für die Ernährungsintervention wurden mit der Ernährungssoftware PRODI[®] 5.8 berechnet und ausgewertet. Die Diät-Tagespläne für die Ernährungsintervention wurden bis Ende der zwei- bis vierwöchigen *Run-in* Phase ausgearbeitet und den Probanden wöchentlich neu ausgehändigt.

Während der Ernährungsintervention führten die Probanden Wiegeprotokolle, d.h. sie schrieben jeden Tag die Menge und Art der Nahrungsmittel, die sie essen, auf und bestätigten so, dass sie die Diät-Tagespläne einhielten. Die Probanden dokumentierten während der Studiengesamtlaufzeit das Ausmaß ihrer körperlichen Aktivität anhand eines Fragebogens (*International Physical Activity Questionnaire*, IPAQ) (150). Während der Gesamtstudiendauer durfte es keine Änderung der körperlichen Aktivität geben, damit die Ergebnisse am Ende der Ernährungsintervention allein auf die Ernährungsumstellung zurückzuführen waren. Den Probanden wurde ein Schrittzähler (MyWellness Key[®]) mitgegeben, um das Bewegungsausmaß während der Ernährungsintervention zusätzlich zum Fragebogen zu beurteilen.

Das Einhalten der Diät wurde klinisch und laborchemisch einmal pro Woche in beiden Gruppen überprüft. Dazu kamen die Probanden morgens nüchtern zur Visite ins DDZ. Hier wurden die Wiege- und Bewegungsprotokolle kontrolliert, Gewicht, Blutdruck, Hüft- und Taillenumfang

gemessen und die Diät-Tagespläne für die nächste Woche besprochen. Außerdem wurden 5 ml Blut als Serum und 3 ml Blut als EDTA entnommen. Die Blutproben wurden zehn Minuten bei 4 °C mit 2800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Je 0,6 ml EDTA Plasma und je 1 ml Serum wurden jeweils bei - 20 °C und - 80 °C eingefroren, um später auf Marker für Vollkornaufnahme (Alkylresorcinol) (151), Kaffeezufuhr (Methylxanthine, Serum-Koffein, Chlorogensäure, Kaffeesäure-Metabolite) (152) und Fleischaufnahme (1- und 3-Methylhistidin) (153) untersucht zu werden. Außerdem sammelten alle Probanden 24 h vor der wöchentlichen Visite Urin. Drei Urin-Röhrchen wurden mit 24 h Sammelurin gefüllt und bei -20 °C für die spätere Messung der Marker für Vollkornaufnahme, Kaffeezufuhr und Fleischaufnahme eingefroren.

Die DDIET-Studie konnte jederzeit auf Wunsch des Probanden ohne Angabe von Gründen beendet werden. Insbesondere bei Nicht-Einhalten der Diätvorschriften und/oder Verschlechterung der Diabeteskontrolle unter Metformin- und/oder Diättherapie wurde die Studienteilnahme abgebrochen.

3.2.4 Betazellfunktionstests an den Untersuchungstagen

Im Rahmen der DDIET-Studie wurde in der H-RISK und in der L-RISK Gruppe die Wirkung der achtwöchigen Ernährungsintervention auf die Insulinsekretion untersucht. Dazu wurde jeweils vor und nach der Diät im Zuge von drei Untersuchungstagen ein MMTT (Tag 1) (24), ein IVGTT (Tag 2) (24) und ein GST (Tag 3) (53) durchgeführt. Jedes Mal waren die Probanden seit mindestens acht Stunden nüchtern und hatten die orale Diabetes-Medikation seit drei Tagen abgesetzt. In den letzten sieben Tagen durfte es keine akuten Infektionskrankheiten und keine Einnahme von NSAR gegeben haben. Die Nüchternglukosekonzentration musste vor der Durchführung der Betazellfunktionstests im Bereich zwischen 70 mg/dl und 200 mg/dl liegen.

3.2.4.1 Mixed-Meal Tolerance Test

Im MMTT nahmen die Probanden zu Minute 0 eine standardisierte Flüssigmahlzeit (360 ml Boost[®] High Protein von Nestlé) aus Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß innerhalb von fünf Minuten zu sich. Den Probanden wurde nüchtern zu Minute -15 und 0 sowie nach dem Trinken von Boost[®] High Protein zu Minute 30, 60, 90, 120 und 180 Blut aus dem venösen Zugang der Cubitalvene abgenommen (24) (Tabelle 6). Der venöse Zugang wurde zwischen den einzelnen Blutentnahmen mit 0,9%iger Natriumchloridlösung gespült. Vor der Blutprobengewinnung wurde die Natriumchloridinfusion gestoppt und 1 ml Blut verworfen, um die Messung nicht durch Verdünnung zu beeinflussen.

Tabelle 6. Blutabnahmeprotokoll im *Mixed-Meal Tolerance Test*. GLP-1=*Glukagon-like Peptide 1*. GIP=*Glucose-dependent insulinotropic peptide*. K-EDTA=Kaliummethylen-diamintetraacetat. DPP4-Hemmer=Dipeptidylpeptidase-4-Hemmer

| | Insulin, C-Peptid | Glukose | GLP-1, GIP |
|--------------|-------------------|----------------------------|----------------------|
| Einheit | μU/ml, ng/ml | mg/dl | pmol/l, pg/ml |
| Volumen | 2 ml | 0,5 ml | 3 ml |
| Stabilisator | Serum | Vollblut + Hämolyse-lösung | K-EDTA + DPP4-Hemmer |

3.2.4.2 Intravenöser Glukosetoleranztest

Für den IVGTT wurde eine 30%ige Glukoselösung (168ml = 50,4 g Glukose) selbst hergestellt. Dazu wurden 84 ml einer 20%ige Glukoselösung in eine leere sterile Flasche (Mindestvolumen 250 ml) gegeben, anschließend 81,5 ml 40%ige Glukoselösung hinzugefügt und gut vermischt. Da der IVGTT im Rahmen eines hyperinsulinämischen-euglykämischen Clamp-Versuchs stattfand (154), wurde die 30%ige Glukoselösung noch mit 2,5 ml D-(6,6-²H₂)Glukose angereichert. Dies ist für den IVGTT aber ohne Bedeutung. Die 30%ige Glukoselösung wurde dann entsprechend dem Körpergewicht des Probanden (1ml 30%ige Glukoselösung pro kg Körpergewicht) als Bolus appliziert. Zu Minute -30 und 0 (vor dem Glukosebolus) und zu Minute 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 und 60 wurde Blut aus dem venösen Zugang der Cubitalvene abgenommen (24) (Tabelle 7). Auch hier wurde der venöse Zugang zwischen den einzelnen Blutentnahmen mit 0,9%iger Natriumchloridlösung gespült.

Tabelle 7. Blutabnahmeprotokoll im intravenösen Glukosetoleranztest

| | Insulin, C-Peptid | Glukose |
|--------------|-------------------|---------------------------|
| Einheit | μU/ml, ng/ml | mg/dl |
| Volumen | 2 ml | 0,5 ml |
| Stabilisator | Serum | Vollblut+ Hämolyse-lösung |

3.2.4.3 Glukagonstimulationstest

Beim GST wurde 1 mg gefriergetrocknetes Glukagon mit 1 ml Wasser für Injektionszwecke aufgelöst. Die Lösung wurde geschwenkt, bis das Glukagon aufgelöst und die Lösung klar war. Zu Minute 0 wurden 2 ml Glukagonlösung über den venösen Zugang der Cubitalvene innerhalb einer Minute injiziert. Zu Minute 0 (vor Glukagonapplikation) und Minute 6 (nach Glukagonapplikation) wurde Blut abgenommen, um die Serum-Insulin- (μU/ml) und Serum-C-Peptid- (ng/l) Konzentrationen im Labor sowie die Blutglukosekonzentration (mg/dl) im Blutglukosemessgerät zu messen (53).

3.2.5 Laborbestimmungen

Nur die Glukosekonzentration wurde direkt am Bett des Probanden bestimmt. Alle anderen Blutproben wurden nach der Entnahme direkt auf Eis gelagert und bei 4 °C für zehn Minuten bei 2800 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Die Serum- und Plasmaproben wurden dann bei -20 °C bis zur weiteren Verarbeitung im Labor eingefroren.

Die Glukosekonzentration wurde mit dem Analysegerät EKF Biosen Line C gemessen (155). Die Bestimmungsmethode beruht auf einem enzymatischen Verfahren mit Hexokinase und Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PD). Hexokinase phosphoryliert Glukose zu Glukose-6-Phosphat, das von G6PD unter Bildung von NADPH (Nicotinamidadenindinucleotidphosphat) oxidiert wird. NADPH wird dann als Glukose-äquivalente Stoffmenge bei 340 nm im Photometer gemessen. Um Messfehler gering zu halten, wurde jeder Glukosewert doppelt bestimmt und jeweils der Mittelwert errechnet.

Insulin und C-Peptidkonzentrationen wurden mit dem IMMULITE[®] 2000 Analyzer bestimmt (156, 157). Zur Analyse der Insulin- bzw. C-Peptid-Konzentration waren 100 µl bzw. 25 µl Serum notwendig. Der IMMULITE[®] 2000 ist ein Immunoassay-Analyseautomat zur Ausführung von Chemiluminiszenz-Immunoassays. Als feste Phase dienen dem IMMULITE[®] 2000 Analyzer Polystyrolkugeln, die mit Anti-Insulin- bzw. Anti-C-Peptid-Antikörpern (AK) der Maus beschichtet sind und in ein speziell konstruiertes Reaktionsgefäß gegeben werden. Bei der Bestimmung der Insulinkonzentrationen mittels IMMULITE[®] 2000 besteht die flüssige Phase sowohl aus Alkaliphosphatase, die mit Anti-Insulin-AK der Maus konjugiert ist als auch aus Alkaliphosphatase, die mit Anti-Insulin-AK vom Schaf konjugiert ist. Bei der Bestimmung der C-Peptid-Konzentrationen bildet nur eine mit Anti-C-Peptid-AK der Maus konjugierte Alkaliphosphatase die flüssige Phase. Die Probe des Probanden wird zusammen mit dem alkaliphosphatasemarkierten Reagenz in das Reaktionsgefäß zur Polystyrolkugel gegeben und für 60 Minuten (Insulin) bzw. 30 Minuten (C-Peptid) inkubiert. Insulin und C-Peptid der Probandenprobe bilden Antikörper-Sandwich-Komplexe und ungebundene Probandenprobe und Enzymkonjugat werden durch Waschung entfernt. Abschließend wird Chemiluminiszenzsubstrat dem Reaktionsgefäß zugefügt und reagiert mit der an der Kugel gebundenen Alkaliphosphatase. Die nun ausgesandte Lichtmenge ist proportional zur ursprünglich in der Probe vorhandenen Insulin- bzw. C-Peptid-Menge.

Die Konzentrationen der Inkretine GLP-1 und GIP wurden mit Hilfe eines Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt (158, 159). Ein polyklonaler Anti- GLP-1- bzw. GIP- AK wird an eine Mikrotiterplatte mit 96 wells genannten Vertiefungen gebunden. Die Probandenprobe mit GLP-1 bzw. GIP wird in die Wells gegeben und inkubiert, so dass der spezifische AK mit GLP-1 bzw. GIP reagieren kann. Nach Ende der Inkubationszeit wird die Mikrotiterplatte gewaschen und so ungebundenes GLP-1 bzw. GIP entfernt. Nun wird ein monoklonaler, biotinylierter Anti- GLP1- bzw. GIP- AK zugesetzt und bindet ebenfalls an GLP-1 bzw. GIP, so dass ein Sandwich-Komplex entsteht. Nachdem die Mikrotiterplatte erneut abgewaschen wurde, wird eine Meerrettich-Peroxidase mit dem monoklonalen, biotinylierten Anti-GLP-1- bzw. GIP-AK konjugiert. Die Mikrotiterplatte wird ein letztes Mal gewaschen und die Sandwich-Komplexe quantifiziert, indem Tetramethylbenzidin als Substrat für die Meerrettich-Peroxidase zugesetzt wird. So wird eine Farbänderung von blau nach gelb eingeleitet, die direkt proportional zur GLP-1 bzw. GIP-Konzentration ist und photometrisch bei 450 nm gemessen wird.

3.2.6 Berechnungen

Die Berechnung der inkrementellen Fläche unter der Kurve (iAUC) ist die Methode der Wahl, um die AUC von Insulin, C-Peptid, Glukose, GIP und GLP-1 als Antwort auf einen Glukosestimulus im IVGTT oder auf eine gemischte Mahlzeit im MMTT darzustellen. Um die iAUC zu erhalten, wurde die Nüchternkonzentration Y_0 von jedem folgenden Messwert Y zum Zeitpunkt X subtrahiert (160). Die iAUC wurde im MMTT für die Konzentrationen von Insulin, C-Peptid, Glukose, GLP-1 und GIP von Minute 0 bis 180 und im IVGTT für die Konzentrationen von Insulin und C-Peptid von Minute 0 bis 60 bestimmt. Auch die AIR für Insulin von Minute 0 bis 10 im IVGTT wurde als iAUC berechnet. Alle AUC-Berechnungen wurden mit GraphPad Prism Version 6.00, GraphPad Prism Software Inc. durchgeführt.

Obwohl die folgenden Indices auf dem OGTT beruhen, sind sie in Studien bereits für den MMTT angewandt worden (161, 162). Basierend auf dem MMTT wurden berechnet:

- $HOMA-B = 20 \times \text{Insulin}_{0 \text{ min}} / (\text{Glukose}_{0 \text{ min}} - 3,5)$ (40) mit Nüchternkonzentrationen von Insulin [$\mu\text{U/ml}$] und Glukose [mmol/l] vor dem MMTT zur Bestimmung der Betazellfunktion
- $IGI = \Delta I_{30} / \Delta G_{30} = [(\text{Insulin}_{30 \text{ min}} - \text{Insulin}_{0 \text{ min}}) / (\text{Glukose}_{30 \text{ min}} - \text{Glukose}_{0 \text{ min}})]$ (41) mit Konzentrationen von Insulin [$\mu\text{U/ml}$] und Glukose [mg/dl] zu Minute 0 und 30 im MMTT zur Bestimmung der ersten Phase der GSIS

- $OGIS = 0,5 \times \sqrt{(B^2 + 4 \times p5 \times p6 \times (G_{120 \text{ min}} - G_{\text{Clamp}}) \times Cl_{\text{MMTT}})} \quad (44)$ um aus den Insulin [$\mu\text{U/ml}$] - und Glukosekonzentrationen [mg/dl] im MMTT die Insulinsensitivität des Probanden beurteilen zu können, mit:
 - $Cl_{\text{MMTT}} = \text{Glukoseaufnahme (Clearance) im MMTT} = p4 \times ((p1 \times D_0 - V(G_{180 \text{ min}} - G_{120 \text{ min}}) / 60) / G_{120 \text{ min}} + p3 / G_{0 \text{ min}}) / (I_{120 \text{ min}} - I_{0 \text{ min}} + p2)$
 - $B = (p5 \times (G_{120 \text{ min}} - G_{\text{Clamp}}) + 1) \times Cl_{\text{MMTT}}$
 - $p1 = 289, p2 = 270, p3 = 14000, p4 = 440, p5 = 0,0000637, p6 = 117$
 - $D_0 = \text{orale Kohlenhydratdosis im MMTT in } \text{g/m}^2, V = \text{Verteilungsvolumen für Glukose} = 10 \text{ l/m}^2, G_{\text{Clamp}} = \text{Glukosekonzentration im Clamp} = 90 \text{ mg/dl}$
- $ISI_{\text{comp}} = 10000 / \sqrt{(\text{Insulin}_{\text{Mittelwert im MMTT}} \times \text{Glukose}_{\text{Mittelwert im MMTT}} \times \text{Insulin}_{0 \text{ min}} \times \text{Glukose}_{0 \text{ min}})} \quad (45)$ mit Nüchternkonzentrationen und Mittelwerten von Insulin [$\mu\text{U/ml}$] und Glukose [mg/dl] im MMTT

Basierend auf dem IVGTT wurden folgende Indices berechnet:

- AIR als iAUC nach der Trapezregel = $\Delta X \times ((Y_1 + Y_2) / 2)$ mit $\Delta X = \text{Zeitdifferenz zwischen Messung 1 und 2}, Y_1 = \text{Messwert 1 und } Y_2 = \text{Messwert 2}$ für Insulin von Minute 0 bis 10 mit GraphPad Prism Version 6, GraphPad Prism Software Inc. zur Bestimmung der ersten Phase der Insulinsekretion im IVGTT (24)
- $DI = AIR \times ISI_{\text{comp}}$, um die Betazellfunktion im IVGTT relativ zur Insulinresistenz des Probanden zu erhalten (47)

Basierend auf dem GST wurden folgende Indices berechnet:

- Insulinkonzentrationen als Differenz der Konzentrationen von Insulin [$\mu\text{U/ml}$] zu Minute 6 und Minute 0 = $\text{Insulin}_{\text{Min 6}} - \text{Insulin}_{\text{Min 0}}$
- C-Peptidkonzentrationen als Differenz der Konzentrationen von C-Peptid [ng/l] zu Minute 6 und Minute 0 = $\text{C-Peptid}_{\text{Min 6}} - \text{C-Peptid}_{\text{Min 0}}$

Die konventionellen Einheiten für Insulin [$\mu\text{U/ml}$] und Glukose [mg/dl] wurden teilweise in die SI-Einheiten für Insulin [pmol/l] und Glukose [mmol/l] umgerechnet:

$\text{Insulin } [\mu\text{U/ml}] \times 7,175 = \text{Insulin } [\text{pmol/l}]$

$\text{Glukose } [\text{mg/dl}] \times 0,0555 = \text{Glukose } [\text{mmol/l}]$

3.2.7 Statistische Auswertung

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes (*standard error of the mean*, SEM) angegeben. Unter der Annahme, dass es sich um zwei normalverteilte Stichproben handelt, wurde die statistische Signifikanz anhand des zweiseitigen t-Tests überprüft. Zum Vergleich der Gruppen H-RISK und L-RISK nach acht Wochen Ernährungsintervention wurde der ungepaarte t-Test angewandt (unabhängige Stichproben). Um den Effekt von acht Wochen Diät jeweils für die Gruppen H-RISK und L-RISK zu analysieren, wurde der gepaarte t-Test verwendet (abhängige Stichproben). Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ gewählt. Die Berechnung der Statistik und Erstellung von Graphen erfolgte mit GraphPad Prism Version 6. Daten und Indices wurden mit Microsoft Excel ermittelt.

4 Ergebnisse

4.1 Probandeneinschluss in die DDIET-Studie

Für die DDIET-Studie wurden 216 Patienten mit T2DM und Interesse an einer Studienteilnahme kontaktiert. Davon erfüllten 90 nicht die Einschlusskriterien, 33 zogen ihr Interesse an einer Studienteilnahme zurück und 34 gaben andere Gründe an, warum eine Studienteilnahme nicht möglich war, sodass am Ende 59 Probanden in die Studie eingeschlossen wurden. Acht Probanden wurden bereits vor Studienbeginn aufgrund von Zeitmangel, neu aufgetretenen Komorbiditäten, Kaffeeintoleranz und einem Anstieg des HbA1c >9% ausgeschlossen. Vier Probanden brachen die Ernährungsintervention im Studienverlauf ab. Gründe waren hier Zeitmangel, eine neu diagnostizierte Tumorerkrankung und eine unregelmäßige Einnahme von Metformin. 37 Probanden gingen schließlich in die Auswertung ein, davon 20 Probanden aus der H-RISK und 17 aus der L-RISK Gruppe (Abb. 7).

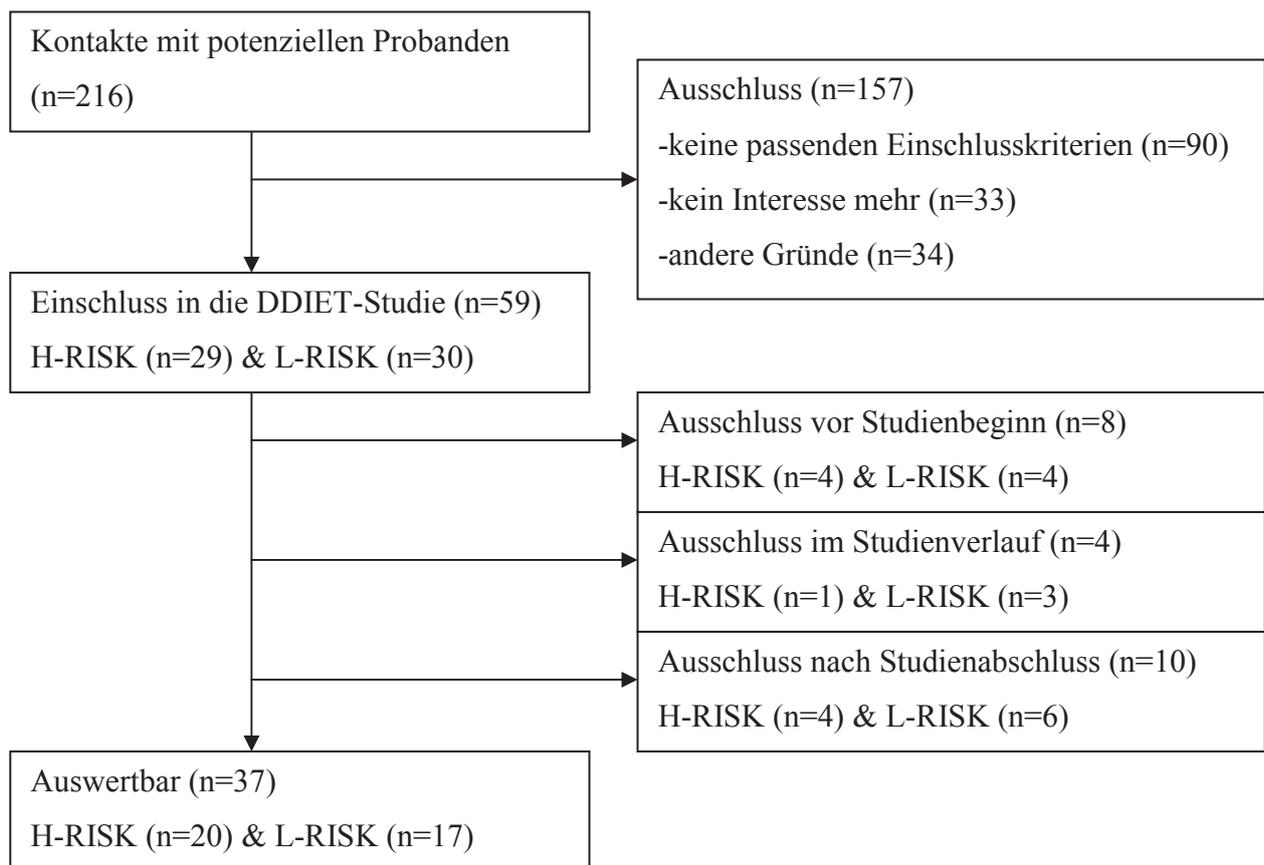


Abb. 7: Rekrutierung der Patienten. H-RISK=high risk. L-RISK=low risk

4.2 Anthropometrie der Gruppen H-RISK und L-RISK

Bei den 37 auswertbaren Probanden handelte es sich um 20 Probanden mit T2DM in der H-RISK Gruppe und 17 Probanden mit T2DM in der L-RISK Gruppe. Das mittlere Alter lag bei 53 Jahren (H-RISK) und bei 55 Jahren (L-RISK), das Körpergewicht betrug im Mittel 102,7 kg (H-RISK) und 105,6 kg (L-RISK) und für den BMI ergaben sich Mittelwerte von 35,4 kg/m² (H-RISK) und 35,7 kg/m² (L-RISK). Der mittlere HbA1c lag bei 6,6% (H-RISK) und 6,5% (L-RISK). Die Eigenschaften zeigten keine Unterschiede zwischen den Gruppen (Tabelle 8).

Tabelle 8. Anthropometrie und Laborparameter^A

| | H-RISK | L-RISK | p-Wert ^B |
|--|-----------|-----------|---------------------|
| n [männlich/weiblich] | 20 (9/11) | 17 (8/9) | 1,00 |
| Alter [Jahre] | 53,2±2,1 | 55,2±1,7 | 0,46 |
| Gewicht [kg] | 102,7±3,5 | 105,6±4,7 | 0,63 |
| Body Mass Index (BMI) [kg/m ²] | 35,4±1,0 | 35,7±1,0 | 0,84 |
| Taillenumfang [cm] | 112,4±2,6 | 114,4±2,9 | 0,60 |
| Hüftumfang [cm] | 113,4±3,4 | 116,6±2,7 | 0,45 |
| Systolischer Blutdruck [mmHg] | 135±4 | 135±3 | 0,99 |
| Diastolischer Blutdruck [mmHg] | 87±3 | 85±2 | 0,60 |
| HbA1c [%] | 6,6±0,2 | 6,5±0,1 | 0,92 |
| Metformin [ja/nein] | 16/4 | 13/4 | 1,00 |
| Triglyzeride [mmol/l] | 2,15±0,38 | 2,01±0,29 | 0,78 |
| Gesamtcholesterin [mmol/l] | 5,41±0,19 | 5,29±0,20 | 0,67 |
| LDL-Cholesterin [mmol/l] | 3,54±0,24 | 3,27±0,17 | 0,38 |
| HDL-Cholesterin [mmol/l] | 1,25±0,07 | 1,30±0,08 | 0,69 |
| Alanin-Aminotransferase (ALT) [U/l] | 38±4 | 32±3 | 0,27 |
| Aspartat-Aminotransferase (AST) [U/l] | 32±6 | 23±2 | 0,19 |

^ADie Werte sind angegeben als Mittelwerte±SEM. ^BDie Gruppen H-RISK und L-RISK wurden mit dem ungepaarten t-test verglichen

4.3 Ernährungsintervention und Gewichtsabnahme in den Gruppen H-RISK und L-RISK

Die Gruppen unterschieden sich zu Beginn der Ernährungsintervention nicht in der Aufnahme der Gesamtkalorienmenge, Makronährstoffe, Getreide-Ballaststoffe und von rotem Fleisch (Tabelle 9). Für die Ernährungsintervention wurde die tägliche Kalorienzufuhr in beiden Gruppen um 300 kcal reduziert und die Verteilung der Makronährstoffe festgelegt. Teilnehmer beider Gruppen nahmen mehr Kohlenhydrate und Proteine, aber weniger Fett zu sich als vor der Ernährungsintervention (Tabelle 10). Die Menge an Getreide-Ballaststoffen betrug für L-RISK $31,8 \pm 0,2$ g/Tag und für H-RISK $4,6 \pm 0,1$ g/Tag (L-RISK vs. H-RISK $p < 0,0001$). Der Verzehr von rotem Fleisch betrug für L-RISK 0 g/Tag und für H-RISK 204 ± 2 g/Tag (L-RISK vs. H-RISK $p < 0,0001$). Nach acht Wochen Ernährungsintervention verloren die Probanden in H-RISK $-5,9 \pm 0,8\%$ ($p < 0,001$) und in L-RISK $-5,3 \pm 1,8\%$ ($p < 0,001$) des Gewichts der Run-in Phase.

Tabelle 9. Aufnahme von Kalorien, Kohlenhydraten, Fett, Eiweiß, Getreide-Ballaststoffen und rotem Fleisch vor Studienbeginn^A. KH=Kohlenhydrate. F=Fett. EW=Eiweiß

| | H-RISK | L-RISK | p-Wert ^B |
|--------------------------------|----------|----------|---------------------|
| Kalorienzufuhr [kcal/Tag] | 2114±104 | 2250±128 | 0,41 |
| KH [% der Gesamtenergie] | 44,9±2,0 | 45,6±1,8 | 0,81 |
| F [% der Gesamtenergie] | 40,0±2,1 | 35,7±2,1 | 0,16 |
| EW [% der Gesamtenergie] | 17,3±0,9 | 19,3±1,4 | 0,21 |
| Getreide-Ballaststoffe [g/Tag] | 9,5±1,2 | 11,1±1,2 | 0,35 |
| Rotes Fleisch [g/Tag] | 104±13 | 126±19 | 0,34 |

^ADie Werte sind angegeben als Mittelwerte±SEM. ^BDie Gruppen H-RISK und L-RISK wurden mit dem ungepaarten t-test verglichen

Tabelle 10. Änderungen in der Aufnahme von Kalorien, Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß vor der Intervention^B. KH=Kohlenhydrate. F=Fett. EW=Eiweiß

| | H-RISK | L-RISK | p-Wert ^C |
|---------------------------|-------------|-------------|---------------------|
| Kalorienzufuhr [kcal/Tag] | -365±44*** | -294±25*** | 0,17 |
| KH [% der Gesamtenergie] | +4,4±1,7* | +5,4±1,4** | 0,66 |
| F [% der Gesamtenergie] | -7,8±1,6*** | -7,6±2,0*** | 0,93 |
| EW [% der Gesamtenergie] | +3,2±0,8** | +2,3±1,1 | 0,52 |

^ADie Werte sind angegeben als Mittelwerte±SEM. ^BMit dem gepaarten t-test wurden jeweils für H-RISK und L-RISK die Werte zu Woche 0 vor und zu Woche 1-8 während der Ernährungsintervention verglichen. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. ^CMit dem ungepaarten t-test wurden die Werte der Gruppen nach Woche 8 verglichen

4.4 Insulinsekretion und Betazellfunktion im Mixed-Meal Tolerance Test

Nach der Ernährungsintervention nahm die Nüchtern glukosekonzentration in der L-RISK Gruppe um 10,3% ab ($-11,9 \pm 2,8$ mg/dl, $p < 0,0001$) (Abb. 8). Die Nüchterninsulinkonzentration sank nach der Intervention in der H-RISK Gruppe um 27,8% ($-5,1 \pm 1,4$ μ U/ml, $p < 0,001$) und in der L-RISK Gruppe um 31,6% ($-6,8 \pm 1,9$ μ U/ml, $p < 0,001$) (Abb. 9). Die Nüchtern-C-Peptidkonzentration nahm in der H-RISK Gruppe um 25,7% ($-0,8 \pm 0,2$ ng/ml, $p < 0,001$) und in der L-RISK Gruppe um 29,7% ($-1,0 \pm 0,3$ ng/ml, $p < 0,0001$) ab (Abb. 10).

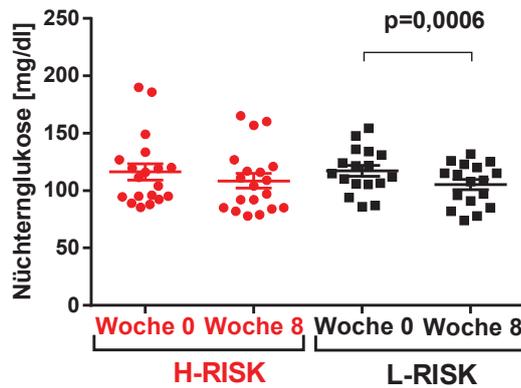


Abb. 8: Nüchtern glukosekonzentrationen vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Jeder Punkt entspricht einem Individuum, die Balken entsprechen den Mittelwerten \pm SEM.

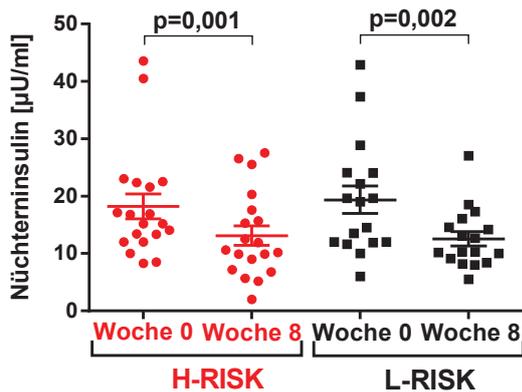


Abb. 9: Nüchterninsulinkonzentrationen vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Jeder Punkt entspricht einem Individuum, die Balken entsprechen den Mittelwerten \pm SEM.

Abb. 10: Nüchtern-C-Peptidkonzentrationen vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Jeder Punkt entspricht einem Individuum, die Balken entsprechen den Mittelwerten \pm SEM.

Die iAUC für die Glukosespiegel war nach der Intervention für die H-RISK Gruppe 20,1% geringer als zu Beginn (-1109±507 au, $p<0,05$) (Abb. 11). Die iAUC für die Sekretion von Insulin (Abb. 12) und C-Peptid (Abb. 13) änderten sich weder für die L-RISK noch für die H-RISK Diät. Ein weiteres Resultat des MMTT war die höhere iAUC für die GIP Sekretion nach acht Wochen L-RISK Diät (+8152±1993 au, $p<0,0001$) (Abb. 14). Die iAUC für die GLP-1 Sekretion wurde durch beide Ernährungsinterventionen nicht beeinflusst (Abb. 15).

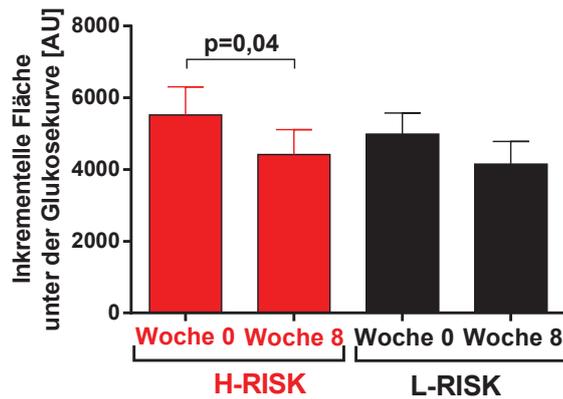


Abb. 11: Inkrementelle Fläche unter der Glukosekurve aus dem Mixed-Meal Tolerance Test vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

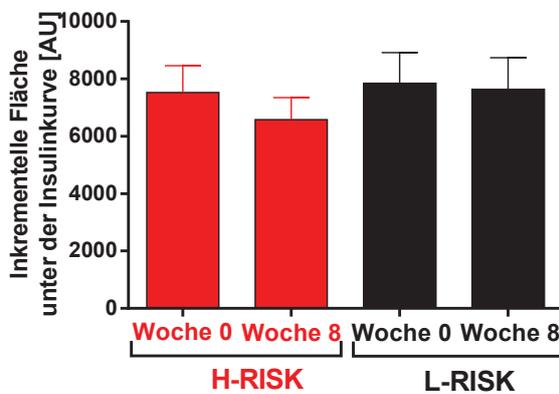


Abb. 12: Inkrementelle Fläche unter der Insulinkurve aus dem Mixed-Meal Tolerance Test vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

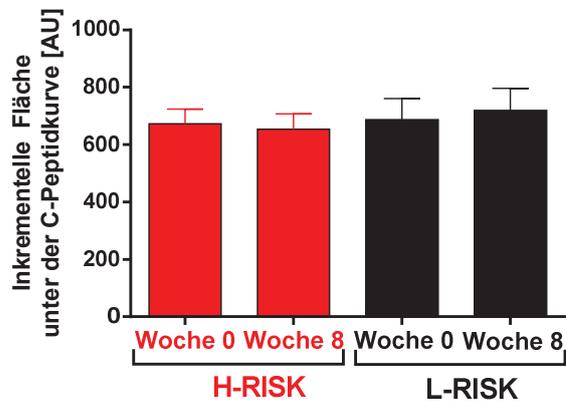


Abb. 13: Inkrementelle Fläche unter der C-Peptidkurve aus dem Mixed-Meal Tolerance Test vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

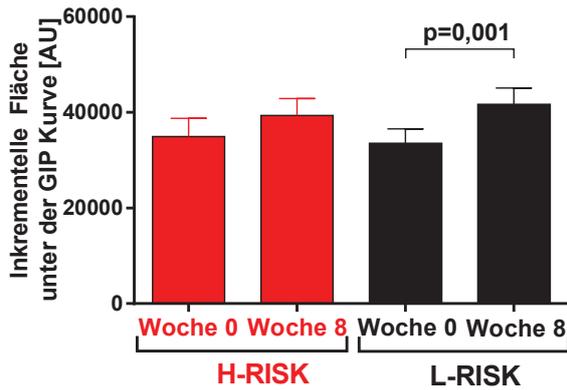


Abb. 14: Inkrementelle Fläche unter der GIP-Kurve vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=16). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

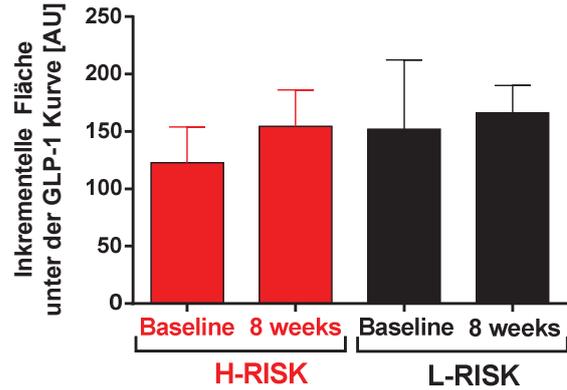


Abb. 15: Inkrementelle Fläche unter der GLP-1-Kurve vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=16). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

Der IGI als Index für die erste Phase der Insulinsekretion (Abb. 16), der OGIS als Index für die Insulinsensitivität (Abb. 17) und der HOMA-B Index als ein Maß für die Betazellfunktion (Abb. 18) blieben sowohl nach acht Wochen L-RISK Diät als auch nach acht Wochen H-RISK Diät unverändert, obwohl es zumindest beim HOMA-B Index eine Tendenz zu einer schlechteren Betazellfunktion durch die H-RISK Diät gab. Der ISIcomp, ebenfalls ein Index für die Insulinsensitivität, nahm nach beiden Ernährungsinterventionen zu (H-RISK $+2,2\pm 0,8$, $p < 0,05$ vs. L-RISK $+1,0\pm 0,2$, $p < 0,001$) (Abb. 19).

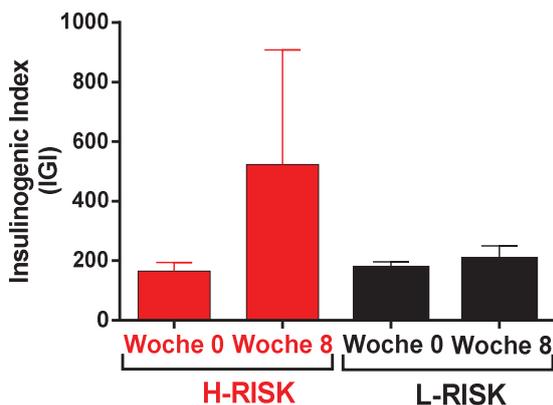


Abb. 16: Insulinogenic Index (IGI) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=16). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

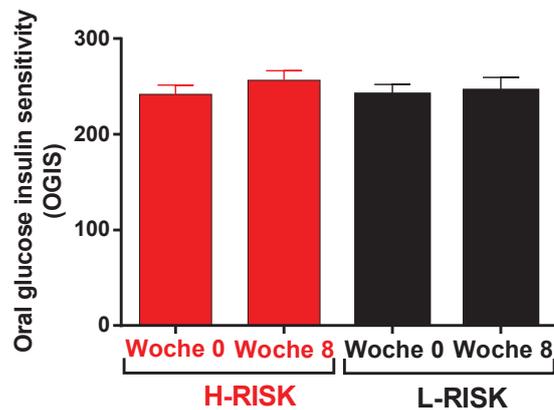


Abb. 17: Oral glucose insulin sensitivity (OGIS) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

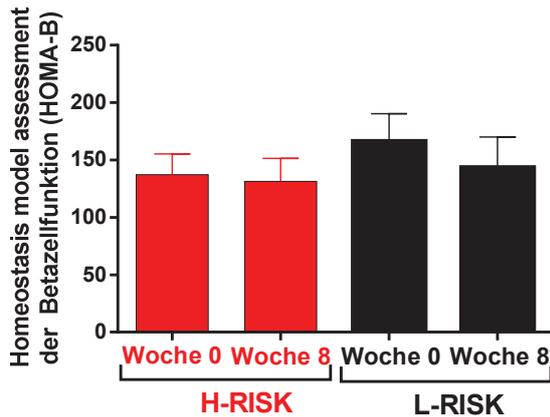


Abb. 18: Homeostasis model assessment der Betazellfunktion (HOMA-B) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=20) und L-RISK (n=18). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

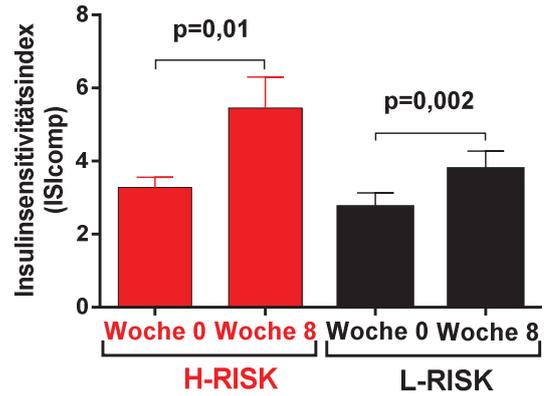


Abb. 19: Insulinsensitivitätsindex (ISIcomp) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=19) und L-RISK (n=17). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

4.5 Insulinsekretion und Betazellfunktion im intravenösen Glukosetoleranztest

Die erste und zweite Phase der Insulinsekretion wurden mittels IVGTT bestimmt. Nach beiden Ernährungsmodifikationen waren keine Änderungen für die iAUC von Insulin (Abb. 20) und C-Peptid (Abb. 21) zu sehen. Allerdings gab es nach acht Wochen L-RISK Diät eine Tendenz zu einer beschleunigten AIR (Abb. 22). Für die Gruppe L-RISK nahm der DI um 48% zu (+247±88, $p < 0,05$) (Abb. 23). Zwischen den beiden Interventionen gab es keinen Unterschied.

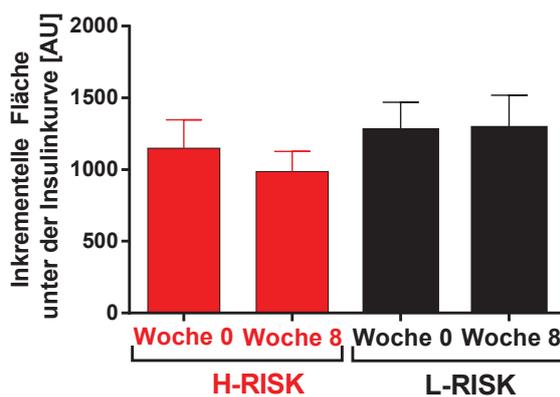


Abb. 20: Inkrementelle Fläche unter der Insulinkurve im intravenösen Glukosetoleranztest vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

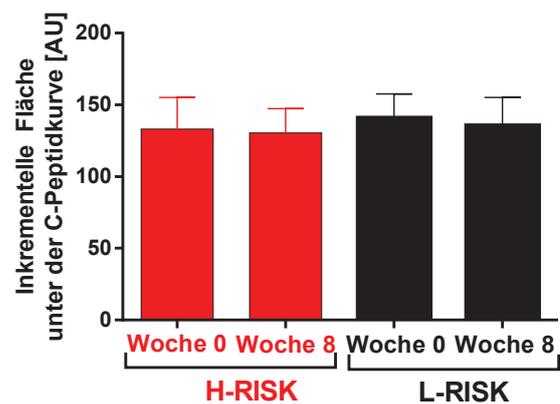


Abb. 21: Inkrementelle Fläche unter der C-Peptidkurve im intravenösen Glukosetoleranztest vor und nach der Intervention für H-RISK (n=17) und L-RISK (n=16). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

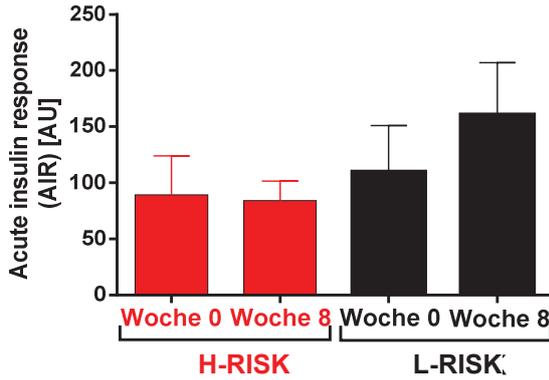


Abb. 22: Acute insulin response (AIR) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

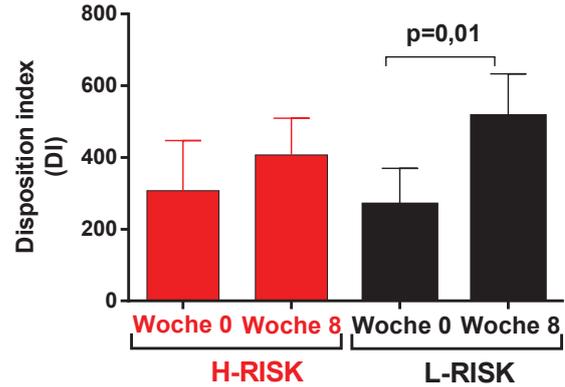


Abb. 23: Disposition Index (DI) vor und nach der Intervention für H-RISK (n=16) und L-RISK (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

4.6 Insulinsekretion und Betazellfunktion im Glukagonstimulationstest

Im GST wurde die Differenz der Konzentrationen von Insulin und C-Peptid zu Minute 6 und Minute 0 betrachtet (Δ). In der L-RISK Gruppe gab es für die Δ Insulinkonzentration nach der Intervention eine Tendenz zur Abnahme (Abb. 24). Die Δ C-Peptidkonzentration nahm ab ($-0,5 \pm 0,2$ ng/ml, $p < 0,001$). In der H-RISK Gruppe gab es für die Δ C-Peptidkonzentration eine Tendenz zur Zunahme (Abb. 25). Allerdings waren die Δ Insulin- und C-Peptidkonzentrationen der Gruppen vor Interventionsbeginn unterschiedlich (Δ Insulin $p < 0,001$ und Δ C-Peptid $p < 0,05$). In der L-RISK Gruppe lag die Sekretion von Insulin- und C-Peptid höher als in der H-RISK Gruppe.

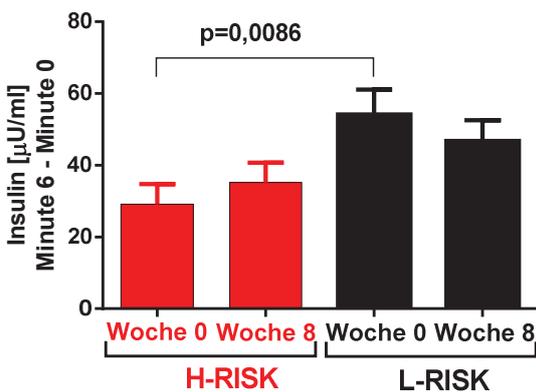


Abb. 24: Differenz der Insulinkonzentrationen zu Minute 6 und 0 vor und nach der Intervention für H-RISK (n=15) und L-RISK (n=13). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

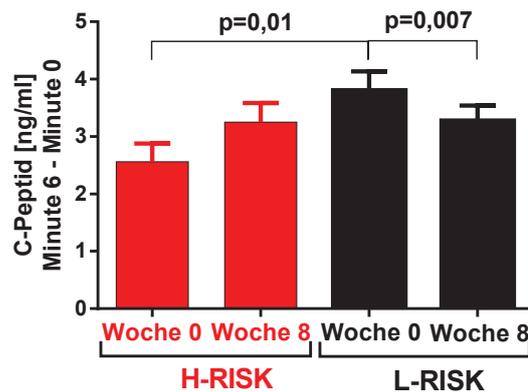


Abb. 25: Differenz der C-Peptidkonzentrationen zu Minute 6 und 0 vor und nach der Intervention für H-RISK (n=17) und L-RISK (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte±SEM

5 Diskussion

Eine achtwöchige, nur moderat kalorienreduzierte Ernährungsmodifikation mit Vollkorn, Kaffee und Verzicht auf rotes Fleisch bewirkte bei stark übergewichtigen Patienten mit T2DM eine 1) Abnahme der Nüchtern-Konzentrationen von Insulin, C-Peptid und Glukose, 2) Zunahme der *incremental area under the curve* für die *gastric inhibitory peptide*-Konzentration, 3) Zunahme des Insulinsensitivitätsindex und 4) Verdopplung des Dispositionsindex. Eine Ernährungsmodifikation mit rotem Fleisch und Verzicht auf Vollkorn und Kaffee war im Vergleich dazu ähnlich effektiv und führte zu einer 1) Abnahme der Nüchternkonzentrationen von Insulin und C-Peptid, 2) Abnahme der *incremental area under the curve* für die Glukosekonzentration und 3) Zunahme des Insulinsensitivitätsindex.

5.1 Effekte der Ernährungsmodifikationen im Mixed-Meal Tolerance Test

Frühere mehrwöchige Ernährungsinterventionsstudien wiesen bei Patienten mit T2DM, die viele Vollkornprodukte zu sich nahmen, geringere Nüchternkonzentrationen von Insulin und Glukose nach (119, 120). Die FINRISK-Studie belegte dies auch für hohen Kaffeekonsum bei Probanden mit hohem Diabetesrisiko (125). Nach Abschluss der DDIET-Studie nahmen in der L-RISK Gruppe die Glukose-, Insulin- und C-Peptidkonzentrationen im MMTT bei nüchternen Probanden mit T2DM ab. Die Ergebnisse sind nicht im Einklang mit Studien, in denen bei T2DM kein Effekt von Vollkornprodukten (121) und bei gesunden Probanden kein Effekt von Kaffee (124, 127) auf die Nüchternkonzentrationen von Glukose und Insulin beobachtet wurde. Allerdings fand in diesen Studien auch keine Gewichtsabnahme statt. Es ist daher vorstellbar, dass sich die Nüchtern-Glukose- und -Insulinkonzentrationen in der DDIET-Studie vor allem durch die Kalorienreduktion und den daraus folgenden Gewichtsverlust verbessert haben und nicht allein die achtwöchige Ernährungsumstellung auf Kaffee und Vollkornprodukte dafür verantwortlich war. Schließlich sind auch die Nüchtern-Insulin- und -C-Peptidkonzentrationen der Probanden in der H-RISK Gruppe nach achtwöchigem Verzicht auf Kaffee und Vollkorn gesunken. Die iAUC für die Glukosekonzentration nahm sogar nur in der H-RISK Gruppe ab und tendierte in der L-RISK Gruppe lediglich dazu, sich zu verringern. Beide Ernährungsmodifikationen wirkten sich daher ähnlich positiv auf den Glukosestoffwechsel aus.

Die Erklärung für diese Ergebnisse kann eine verbesserte Insulinsensitivität nach beiden Ernährungsinterventionen sein. Unter diesen Bedingungen wird – bei geringeren Konzentrationen von Insulin – Glukose besser von den Zielgeweben aus dem Blut

aufgenommen. Der aus dem MMTT berechnete ISIcomp zeigte, dass die Ernährungsmodifikation ungeachtet des Verzehrs von Vollkorn, Kaffee und rotem Fleisch die Insulinsensitivität in beiden Gruppen verbessert. Diese ähnlich positiven Effekte auf die Insulinsensitivität legen angesichts des in beiden Gruppen vergleichbaren Gewichtsverlusts auch hier nahe, dass vor allem die Kalorienreduktion zu diesen Effekten beigetragen hat. Gemessen am OGIS ergaben sich nach der Intervention jedoch weder in der H-RISK noch in der L-RISK Gruppe Änderungen der Insulinsensitivität. In der DDIET-Studie wurde allerdings der hyperinsulinämische-euglykämische Glukose-Clamp als Goldstandard zur Bestimmung der Insulinsensitivität *in-vivo* durchgeführt und es ließ sich in beiden Gruppen eine Zunahme der Insulinsensitivität um 25% feststellen (163). Dies stimmt mit dem ISIcomp überein, obwohl der OGIS dem ISIcomp überlegen sein sollte (44).

Weder in der H-RISK noch in der L-RISK Gruppe änderten sich im MMTT nach acht Wochen Ernährungsintervention die iAUCs für Insulin und C-Peptid. Die Indices IGI für die erste Phase der Insulinsekretion und HOMA-B für die Betazellfunktion blieben in beiden Gruppen unbeeinflusst. Eine Studie an übergewichtigen Probanden ohne T2DM wies im 1 h MMTT eine um 46-49% geringere postprandiale Insulinkonzentration bei einer Aufnahme von 18 g Getreide-Ballaststoffen über vier Wochen nach (111). Der Verzehr von Brot mit unlöslichen Ballaststoffen beschleunigte in einer anderen Studie die erste Phase der Insulinsekretion. Dies war mit einem Anstieg von GIP assoziiert (118). Für die L-RISK Gruppe wurde ebenfalls eine Zunahme der GIP-Konzentration im MMTT nach der Ernährungsintervention beobachtet. Ein reduzierter Inkretineffekt bei Patienten mit T2DM ist aber eher Folge einer verminderten Wirkung von GLP-1 und GIP auf die Betazelle als Folge eines Sekretionsdefizits der Inkretinhormone (164, 165). Die Freisetzung von GIP war bei Patienten mit T2DM nahezu normal, aber der insulinotrope Effekt auf die Betazellen war massiv beeinträchtigt (166). Obwohl sich für die H-RISK Gruppe kein Anstieg der GIP-Konzentration feststellen ließ, wirkten sich beide Ernährungsmodifikationen ähnlich positiv auf den Glukosestoffwechsel aus. Nur in der H-RISK Gruppe nahm die iAUC für die Glukosekonzentration nach der Ernährungsintervention ab. Dies kann den Inkretineffekt verstärkt haben ohne die Konzentration an GIP und GLP-1 zu erhöhen, da chronisch hohe Blutglukosespiegel bei T2DM zur Verringerung des Inkretineffekts auf die Betazelle beitragen (167, 168). Eine Normalisierung der Blutglukose nach vier Wochen führte zu einer drei- bis vierfachen Verbesserung der Insulinantwort auf GIP, GLP-1 und Glukose (169).

5.2 Effekte der Ernährungsmodifikationen im intravenösen Glukosetoleranztest

Die iAUC der Insulinsekretion blieb im IVGTT nach beiden Ernährungsmodifikationen unverändert. In der L-RISK Gruppe verdoppelte sich jedoch der DI, das heißt die Insulinsekretion nach Korrektur um das Ausmaß der Insulinresistenz. Die Fähigkeit der Betazellen, die Insulinresistenz zu kompensieren, nahm nach der Intervention mit Vollkorn, Kaffee und Verzicht auf rotes Fleisch in der L-RISK Gruppe zu, aber war im Vergleich zur H-RISK Gruppe nicht verbessert. In der L-RISK Gruppe war zudem eine Tendenz zu einer beschleunigten AIR zu erkennen.

Studien an übergewichtigen Probanden mit ähnlichem Studiendesign wie die DDIET-Studie kamen im IVGTT zu unterschiedlichen Ergebnissen. So wurde einerseits eine um 7,1% beschleunigte AIR bei 20 Probandinnen beobachtet, die acht Wochen lang täglich Roggenbrot zu sich nahmen (110), aber andererseits ließen sich keine Änderungen von AIR und DI bei 146 Probanden erkennen, die zwölf Wochen lang eine Diät mit Roggen und Vollkorn einhielten (112). Retrospektiv war das Trinken von Kaffee ohne Koffein in einer multi-ethnischen Kohorte aus 954 Männern und Frauen mit einer beschleunigten AIR assoziiert (131). Kaffee ohne Koffein wirkt sich daher eher positiv auf die Insulinsekretion aus als Kaffee mit Koffein. Im Kaffee sind neben Koffein auch Chlorogensäuren und Lignane enthalten, die als Antioxidanzien die Betazellen vor oxidativem Stress schützen. Eventuell hebt Koffein diese schützende Wirkung wieder auf (131). Das würde erklären, warum die L-RISK Gruppe auch nach dem Trinken von täglich fünf Tassen Kaffee mit Koffein nur eine Tendenz zu einer beschleunigten AIR aufwies. Zu bedenken ist, dass es sich in der DDIET-Studie um an T2DM erkrankte Probanden handelte, wohingegen die Probanden in den oben genannten Studien lediglich ein erhöhtes Risiko für T2DM aufwiesen.

Die unterschiedlichen Ergebnisse zu den Wirkungen von Vollkorn und Kaffee auf die Insulinsekretion können sich ergeben, wenn in Ernährungsinterventionsstudien verschiedene Mengen und Sorten an Getreide und Kaffee verwendet werden. Probanden der DDIET-Studie nahmen in der L-RISK Gruppe mit $31,8 \pm 0,2$ g deutlich mehr Getreide-Ballaststoffe zu sich als Probanden anderer Studien (112, 121), in denen keine Effekte der Getreide-Ballaststoffe auf den Glukosestoffwechsel nachgewiesen wurden. Allerdings tranken die Probanden der L-RISK Gruppe zusätzlich zum Getreideverzehr fünf Tassen Kaffee am Tag, sodass auch dem Kaffeekonsum eine Wirkung auf die Insulinsekretion zugeschrieben werden kann. Neben unlöslichen Getreide-Ballaststoffen aus Vollkorn, Hafer und Gerste nahmen die Probanden der

L-RISK Gruppe auch lösliche Getreide-Ballaststoffe aus Mais und Reis auf. In anderen Ernährungsinterventionsstudien wurde nur Brot mit unlöslichen Getreide-Ballaststoffen (117) oder nur eine Quelle für Getreide-Ballaststoffe wie Roggenbrot (109) oder Weizenkleie (121) eingesetzt. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass auch andere im Rahmen von mehrwöchigen Ernährungsinterventionen verzehrte Nahrungsmittel wie Nüsse (170), Eier (171), Milch und Milchprodukte (172) einen Effekt auf die Insulinsekretion hatten.

Im IVGTT und auch im MMTT änderten sich die iAUCs für Insulin nicht. Die Methode zur Berechnung der AUC beeinflusst jedoch die Interpretation der gemessenen Insulinkonzentrationen. Die totale AUC bezieht die Fläche unter den Nüchternkonzentrationen ein und wird durch unterschiedliche Nüchternwerte einzelner Probanden nicht beeinflusst. Die iAUC ist die Methode der Wahl, da die Nüchternkonzentrationen von den jeweiligen Messwerten im Verlauf des Tests subtrahiert werden und auf diese Weise die Antwort auf einen Stimulus korrekt beschrieben wird (173). Die Anwendung der iAUC kann aber schwierig sein, wenn die Konzentrationen im Zeitverlauf unter die Nüchternkonzentrationen fallen und so negative Werte entstehen. Daher kann die positive iAUC bestimmt werden, die nur die Fläche über den Nüchternkonzentrationen berücksichtigt. Allerdings gehen auf diese Weise Informationen verloren, da die Fläche unter den Nüchternkonzentrationen ignoriert wird. Alternativ kann auch die netto iAUC bestimmt werden. Hier wird die negative Fläche von der positiven Fläche abgezogen (160). Ernährungsinterventionen können je nach Methode als effektiv oder nicht effektiv beurteilt werden. Besonders Ergebnisse, die sich auf die totale AUC beziehen, unterscheiden sich von denen anderer Methoden (174). Die Ernährungsmodifikationen haben in der L-RISK und der H-RISK Gruppe die positive iAUC der Insulinsekretion nicht beeinflusst, aber es ist möglich, dass sich die totale AUC geändert hat. Nur wenige Autoren beschreiben, welche Methode zur Berechnung der AUC verwendet wurde (173), so dass es problematisch sein kann, die Wirkungen unterschiedlicher Ernährungsmodifikationen zu vergleichen. Bisher ist nicht einheitlich festgelegt, welche Methode angewandt werden soll.

5.3 Effekte der Ernährungsmodifikationen im Glukagonstimulationstest

Die endogene Sekretionskapazität der Betazellen wird mit Hilfe des GST vor allem in Studien bei T1DM bestimmt. Beim T1DM führt eine selektive, T-Zell-vermittelte Zerstörung der insulinproduzierenden Betazellen zum progredienten Verlust der Betazellmasse. Die Insulinsekretion lässt zunehmend nach, aber kann bei neu diagnostizierten Patienten mit T1DM noch erhalten sein. Selbst im späteren Krankheitsverlauf haben einige Patienten mit T1DM

noch eine verbleibende endogene Insulinsekretionsreserve (175). Nach Glukagoninjektion wird innerhalb von sechs Minuten die maximal gegenregulatorische Sekretion von Insulin und C-Peptid induziert (51). In der DDIET- Studie war der GST bei Probanden mit T2DM wenig aussagekräftig. Bereits vor der Ernährungsintervention lag die endogene Sekretionskapazität der Betazellen in der L-RISK Gruppe höher als in der H-RISK Gruppe. Daher waren die Gruppen nach acht Wochen Interventionsdauer untereinander nicht vergleichbar.

In zwei parallelen Interventionsstudien bei T1DM war ein MMTT im Vergleich zum GST besser geeignet, die noch erhaltene endogene Sekretionskapazität der Betazellen zu bestimmen (51). Bei Patienten mit T1DM waren die im MMTT stimulierten C-Peptid-Antworten jedoch stark von den Nüchtern-Glukosekonzentrationen abhängig (176). Die C-Peptid-Messung ist erforderlich, weil Patienten mit T1DM lebenslang Insulin von außen zuführen müssen (177). Klinische Relevanz hat eher ein MMTT als ein GST, da im MMTT die physiologische Nahrungsaufnahme nachgestellt und die entero-insulinäre Achse stimuliert wird (178).

5.4 Einfluss von Kalorienrestriktion und Verteilung der Makronährstoffe

Für beide Ernährungsinterventionen wurde die tägliche Kalorienzufuhr um 300 kcal im Vergleich zur bisherigen individuellen Tageskalorienzufuhr reduziert und die Effekte auf den Glukosestoffwechsel waren nach beiden achtwöchigen Ernährungsinterventionen vergleichbar. Daher hat sich eher die Kalorienrestriktion als die Zusammensetzung der Ernährung positiv auf den Glukosestoffwechsel ausgewirkt. Beide Ernährungsmodifikationen verbesserten die Insulinsensitivität und die Nüchternkonzentrationen von Insulin und C-Peptid.

In der DDIET-Studie war beiden Ernährungsinterventionen auch eine bestimmte prozentuale Verteilung der Makronährstoffe (50% Kohlenhydrate, 30% Fett, 20% Eiweiß) gemeinsam, wie sie die Evidenz-basierten Ernährungsempfehlungen zur Prävention und Therapie des T2DM befürworten (149). Demnach soll die Proteinaufnahme bei T2DM zwischen 10 und 20% der Gesamtenergie liegen. Eine eiweißreiche Ernährung wird für Patienten mit T2DM wegen der Gefahr einer Nephropathie nicht empfohlen. Die Gesamtfettaufnahme soll nicht mehr als 35% der Gesamtenergie betragen. Eine Fettaufnahme unter 30% kann bei Übergewicht die Gewichtsabnahme erleichtern, da Fett der Nährstoff mit der höchsten Energiedichte ist (149). Eine geringe Fettaufnahme führt aber relativ gesehen zu einer hohen Kohlenhydrataufnahme und so besonders bei Patienten mit T2DM zu hohen Blutkonzentrationen an Glukose und Insulin. Eine reduzierte Kohlenhydratzufuhr kann daher bei Patienten mit T2DM von Vorteil sein. In

einer Metaanalyse aus 19 randomisierten Studien wurde die Wirkung einer fettarmen, aber kohlenhydratreichen Ernährung (24% Fett, 58% Kohlenhydrate) mit einer fettreichen, aber kohlenhydratarmen (40% Fett, 40% Kohlenhydrate) Ernährung bei Patienten mit T2DM verglichen (179). Die postprandialen Glukose- und Insulinkonzentrationen stiegen nur durch die fettarme, aber kohlenhydratreiche Ernährung an. Die Nüchtern-Insulinkonzentrationen nahmen durch den Ersatz von Fett durch Kohlenhydrate ebenfalls zu. In einer anderen Metaanalyse war eine kohlenhydratreiche Ernährung mit einem hohen Anteil an Ballaststoffen bei Patienten mit T2DM dagegen mit geringeren Nüchtern- und postprandialen Glukosekonzentrationen assoziiert (180). Demnach soll vor allem die Qualität der Kohlenhydrate eine wichtige Rolle spielen. In der DDIET-Studie nahmen die H-RISK und die L-RISK Gruppe beide 50% Kohlenhydrate zu sich, aber die L-RISK Gruppe deutlich mehr (Getreide-)Ballaststoffe. Dennoch waren beide Ernährungsinterventionen ähnlich effektiv. Die Evidenz-basierten Empfehlungen zur Prävention und Therapie des Diabetes empfehlen eine Kohlenhydrataufnahme von 45-65% (149).

Wesentliche Ziele in der Ernährungstherapie des T2DM sind die Optimierung der Energieaufnahme und Zusammensetzung der Makronährstoffe. Eine Kalorienreduktion und der daraus folgende Gewichtsverlust sind bei übergewichtigen Patienten mit T2DM essenziell für das Erreichen ausgewogener Insulin- und Glukosespiegel und verbessern den Glukosestoffwechsel unabhängig von der Auswahl der Nahrungsmittel und Zusammensetzung der Makronährstoffe (181). Die durch die Ernährungsmodifikation bedingte höhere Protein- und niedrigere Fettzufuhr in beiden Gruppen kann jedoch zu einer verbesserten Aminosäurenstimulation und verringerten Lipotoxizität geführt und sich so positiv auf die Insulinsekretion ausgewirkt haben (182).

5.5 Schlussfolgerungen

Beide moderat kalorienreduzierten Ernährungsmodifikationen verbesserten die Nüchternkonzentrationen von Insulin und C-Peptid bei übergewichtigen Patienten mit T2DM. Nur die auf Vollkornprodukten, Kaffee und dem Verzicht auf rotes Fleisch basierende Ernährungsmodifikation steigerte die glukoseinduzierte Insulinsekretion bezogen auf das Ausmaß der Insulinresistenz, das heißt den DI. Andererseits senkte nur die auf rotem Fleisch und dem Verzicht auf Vollkorn und Kaffee basierende Ernährungsmodifikation die Glukosespiegel während des MMTT. Daher ist für keine der beiden Ernährungsmodifikationen eine eindeutige Verbesserung der Insulinsekretion nachweisbar.

Die DDIET-Studie hat den Machbarkeitsnachweis für weitere Ernährungsinterventionsstudien mit übergewichtigen Patienten mit T2DM erbracht, denn die Gewichtsreduktion in der H-RISK Gruppe um $-4.6\pm 0.6\%$ und in der L-RISK Gruppe um $-4.8\pm 0.8\%$ spricht für eine gute Compliance der Probanden im Einhalten der Ernährungsvorschriften. Die Studie belegte die Wirksamkeit moderat kalorienreduzierter Ernährungsmodifikationen bei übergewichtigen Patienten mit T2DM, für die eine Gewichtsabnahme eine Motivation zur Umsetzung von Ernährungsempfehlungen ist und das primäre Therapieziel darstellt. Auch wenn die Gewichtsabnahme die Effekte der einzelnen Nahrungsmittel Vollkorn, Kaffee und rotes Fleisch überdeckt haben könnte, konnte die DDIET-Studie die Vorteile einer Ernährung mit vielen Vollkornprodukten und Kaffee aber wenig rotem Fleisch im Vergleich zu einer Ernährung mit viel rotem Fleisch aber ohne Vollkornprodukte und Kaffee für übergewichtige Patienten mit T2DM nicht bestätigen.

6 Literaturverzeichnis

- (1) American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. In: Standards of Medical Care in Diabetes-2015. *Diabetes Care*. 2015; 38 (1): 8-16
- (2) American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014; 37 (1): 81-90
- (3) Kerner W, Brückel J. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. In: Kellerer M, Matthaei S, Hrsg. Praxisempfehlungen der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG). *Diabetologie*. 2012; 7 (2): 84-87
- (4) Danaei G, Finucane MM, Lu Y, Singh GM, Cowan MJ, Paciorek CJ, Lin JK, Farzadfar F, Khang YH, Stevens GA, Rao M, Ali MK, Riley LM, Robinson CA, Ezzati M. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. *Lancet*. 2011; 378 (9785): 31-40
- (5) Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010; 87 (1): 4-14
- (6) Hauner H, Köster I, Schubert I. Trends in der Prävalenz und ambulanten Versorgung von Menschen mit Diabetes mellitus: Eine Analyse der Versichertenstichprobe AOK Hessen/KV Hessen im Zeitraum von 1998 bis 2004. *Dtsch Arztebl*. 2007; 104 (41): A-2799 / B-2469 / C-2397
- (7) Rathmann W, Strassburger K, Heier M, Holle R, Thorand B, Giani G, Meisinger C. Incidence of Type 2 diabetes in the elderly German population and the effect of clinical and lifestyle risk factors: KORA S4/F4 cohort study. *Diabet Med*. 2009; 26 (12): 1212-1219
- (8) Brinks R, Tamayo T, Kowall B, Rathmann W. Prevalence of type 2 diabetes in Germany in 2040: estimates from an epidemiological model. *Eur J Epidemiol*. 2012; 27 (10): 791-797
- (9) Ahren B, Taborsky GJ. β -Cell function and insulin secretion. In: Porte D, Sherwin RS, Baron A, Hrsg. Ellenberg and Rifkin's diabetes mellitus. 2003; 6te Aufl. New York: McGraw Hill: 43-65
- (10) Ferrannini E, Gastaldelli A, Miyazaki Y, Matsuda M, Mari A, DeFronzo RA. Beta-cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90 (1): 493-500
- (11) Gautam D, Han SJ, Duttaroy A, Mears D, Hamdan FF, Li JH, Cui Y, Jeon J, Wess J. Role of the M3 muscarinic acetylcholine receptor in beta-cell function and glucose homeostasis. *Diabetes Obes Metab*. 2007; 9 (2): 158-169

- (12) The Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, Seshasai SR, Gobin R, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Ingelsson E, Lawlor DA, Selvin E, Stampfer M, Stehouwer CD, Lewington S, Pennells L, Thompson A, Sattar N, White IR, Ray KK, Danesh J. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010; 375 (9733): 2215-2222
- (13) Henquin JC. The dual control of insulin secretion by glucose involves triggering and amplifying pathways in β -cells. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011; 93 (1): 27-31
- (14) Rorsman P, Renstrom E. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. *Diabetologia*. 2003; 46 (8): 1029-1045
- (15) Gembal M, Gilon P, Henquin JC. Evidence that glucose can control insulin release independently from its action on ATP-sensitive K^+ channels in mouse B cells. *J Clin Invest*. 1992; 89 (4): 1288-1295
- (16) Sato Y, Aizawa T, Komatsu M, Okada N, Yamada T. Dual functional role of membrane depolarization/ Ca^{2+} influx in rat pancreatic B cell. *Diabetes*. 1992; 41 (4): 438-443
- (17) Panten U, Schwanstecher M, Wallasch A, Lenzen S. Glucose both inhibits and stimulates insulin secretion from isolated pancreatic islets exposed to maximally effective concentrations of sulfonylureas. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1988; 338 (4): 459-462
- (18) Szollosi A, Nenquin M, Aguilar-Bryan L, Bryan J, Henquin JC. Glucose stimulates Ca^{2+} influx and insulin secretion in 2 week-old β -cells lacking ATP-sensitive K^+ channels. *J Biol Chem*. 2007; 282 (3): 1747-1756
- (19) Ravier MA, Nenquin M, Miki T, Seino S, Henquin JC. Glucose controls cytosolic Ca^{2+} and insulin secretion in mouse islets lacking adenosine triphosphate-sensitive K^+ channels owing to a knockout of the pore-forming subunit Kir6.2. *Endocrinology*. 2009; 150 (1) 33-45
- (20) Porksen N, Hollingdal M, Juhl C, Butler P, Veldhuis JD, Schmitz O. Pulsatile insulin secretion: detection, regulation, and role in diabetes. *Diabetes*. 2002; 51 (1): 245-254
- (21) Simon C, Brandenberger G. Ultradian oscillations of insulin secretion in humans. *Diabetes*. 2002; 51 (1): 258-261
- (22) Schmitz O, Rungby J, Edge L, Juhl CB. On high-frequency oscillations. *Ageing Res Rev*. 2008; 7 (4): 301-305
- (23) Curry DL, Bennett LL, Grodsky GM. Dynamics of insulin secretion by the perfused rat pancreas. *Endocrinology*. 1968; 83 (3): 572-584
- (24) Mari A, Pacini G. Methods für the assesment of β -cell function in vivo. In: Roden M, Hrsg. *Clinical Diabetes Research: Methods and Techniques*. 2007; 1te Aufl. Chichester, West Sussex, England: John Wiley and Sons; 7-26

- (25) Henquin JC, Ishiyama N, Nenquin M, Ravier MA, Jonas JC. Signals and pools underlying biphasic insulin secretion. *Diabetes*. 2002; 51 (1): 60-67
- (26) Henquin JC, Nenquin M, Stienet P, Ahren B. In vivo and in vitro glucose-induced biphasic insulin secretion in the mouse: pattern and role of cytoplasmic Ca²⁺ and amplification signals in beta-cells. *Diabetes*. 2006; 55 (2): 441-451
- (27) Creutzfeldt W. The incretin concept today. *Diabetologia*. 1979; 16 (2): 75-85
- (28) Ahren B. Incretin hormones and the up-regulation of insulin secretion in insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97 (4): 1173-1175
- (29) Lindgren O, Carr RD, Deacon CF, Holst JJ, Pacini G, Mari A, Ahren B. Incretin hormone and insulin responses to oral versus intravenous lipid administration in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96 (8): 2519-2524
- (30) Herrmann C, Goke R, Richter G, Fehmann HC, Arnold R, Goke B. Glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulin-releasing polypeptide plasma levels in response to nutrients. *Digestion*. 1995; 56 (2): 117-126
- (31) Nauck MA, Vardarli I, Deacon CF, Holst JJ, Meier JJ. Secretion of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) in type 2 diabetes: what is up, what is down? *Diabetologia*. 2011; 54 (1): 10-18
- (32) Nauck MA, Siemsglüss J, Orskov C, Holst JJ. Release of glucagon-like peptide 1 (GLP-1 [7-36 amide]), gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin in response to oral glucose after upper and lower intestinal resections. *Z Gastroenterol*. 1996; 34 (3): 159-166
- (33) Parker HE, Habib AM, Rogers GJ, Gribble FM, Reimann F. Nutrient-dependent secretion of glucose-dependent insulinotropic polypeptide from primary murine K cells. *Diabetologia*. 2009; 52 (2): 289-298
- (34) Holst JJ. The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev*. 2007; 87 (4): 1409-1439
- (35) Holz GG. Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell. *Diabetes*. 2004; 53 (1): 5-13
- (36) Perfetti R, Merkel P. Glucagon-like peptide-1: a major regulator of pancreatic beta-cell function. *Eur J Endocrinol* . 2000; 143 (6): 717-772
- (37) Garber AJ. 2011. Incretin effects on β -cell function, replication, and mass: the human perspective. *Diabetes Care*. 2000; 34 (2): 258-263
- (38) Meier JJ, Veldhuis JD, Butler PC. Pulsatile insulin secretion dictates systemic insulin delivery by regulating hepatic insulin extraction in humans. *Diabetes*. 2005; 54 (6): 1649-1656

- (39) Ferrannini E, Mari A. Beta cell function and its relation to insulin action in humans: a critical appraisal. *Diabetologia*. 2004; 47 (5): 943-956
- (40) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985; 28 (7): 412-419
- (41) Seltzer HS, Allen EW, Herron AL, Brennan MT. Insulin secretion in response to glycemic stimulus: relation of delayed initial release to carbohydrate intolerance in mild diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1967; 46 (3): 323-335
- (42) DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*. 1979; 273 (3): 214-223
- (43) Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*. 2001; 24 (3): 539-548
- (44) Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*. 1999; 22 (9): 1462-1470
- (45) Kahn SE, Prigeon RL, McCulloch DK, Boyko EJ, Bergman RN, Schwartz MW, Neifing JL, Ward WK, Beard JC, Palmer JP, Porte D Jr. Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects: evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*. 1993; 42 (11): 1663-1672
- (46) Bergman RN, Ader M, Huecking K, Citters G. Accurate assessment of beta-cell function. *Diabetes*. 2002; 51(1): 212-220
- (47) Besser RE, Shields BM, Casas R, Hattersley AT, Ludvigsson J. Lessons From the Mixed Meal Tolerance Test: Use of 90-minute and fasting C-peptide in pediatric diabetes. *Diabetes Care*. 2013; 36 (2): 195-201
- (48) Besser RE, Ludvigsson J, Jones AG, McDonald TJ, Shields BM, Knight BA, Hattersley AT. Urine C-peptide creatinine ratio is a noninvasive alternative to the mixed-meal tolerance test in children and adults with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2011; 34 (3): 607-609
- (49) Gottlieb PA, Quinlan S, Krause-Steinrauf H, Greenbaum C, Wilson D, Rodriguez H, Schatz D, Moran A, Lachin JM, Skyler JS. Failure to Preserve beta-cell function with Mycophenolate Mofetil and Daclizumab Combined Therapy in patients with new onset Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2010; 33 (4): 826-832
- (50) Pescovitz M, Greenbaum C, Krause-Steinrauf H, Becker D, Gitelman S, Goland R, Gottlieb P, Marks J, McGee P, Moran A, Raskin P, Rodriguez H, Schatz D, Wherrett D, Wilson D, Lachin J, Skyler JS. Preservation of Beta-Cell Function by B-Lymphocyte Depletion with

Rituximab in Patients with New Onset Autoimmune Diabetes. *N Engl J Med.* 2009; 361 (22): 2143-2152

(51) Greenbaum CJ, Mandrup-Poulsen T, McGee PF, Battelino T, Haastert B, Ludvigsson J, Pozzilli P, Lachin JM, Kolb H. Mixed-meal tolerance test versus glucagon stimulation test for the assessment of beta-cell function in therapeutic trials in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2008; 31 (10): 1966-1971

(52) Rijkkelijkhuizen JM, Girman CJ, Mari A, Alsema M, Rhodes T, Nijpels G, Kostense PJ, Stein PP, Eekhoff EM, Heine RJ, Dekker JM. Classical and model-based estimates of beta-cell function during a mixed meal vs. an OGTT in a population-based cohort. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009; 83 (3): 280-288

(53) Scheen AJ, Castillo MJ, Lefébvre PJ. Assessment of residual insulin secretion in diabetic patients using the intravenous glucagon stimulatory test: methodological aspects and clinical applications. *Diabetes Metab.* 1996; 22 (6): 397-406

(54) Tabak AG, Jokela M, Akbaraly TN, EJ Brunner, M Kivimäki, DR Witte. Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: An analysis from the Whitehall II study. *Lancet.* 2009; 373 (9682): 2215-2221

(55) Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet.* 1963; 1 (7285): 785-789

(56) Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest.* 1996; 97 (12): 2859-2865

(57) Roden M, Krssak M, Stingl H, Gruber S, Hofer A, Fürnsinn C, Moser E, Waldhäusl W. Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by free fatty acids in humans. *Diabetes.* 1999; 48 (2): 358-364

(58) Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. *News Physiol Sci.* 2004; 19 (3): 92-96

(59) Nowotny B, Zahiragic L, Krog D, Nowotny PJ, Herder C, Carstensen M, Yoshimura C, Szendroedi J, Phielix E, Schadewaldt P, Schloot NC, Shulman GI, Roden M. Mechanisms underlying the onset of oral lipid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes.* 2013; 62(7): 2240–2248

(60) Szendroedi J, Yoshimura T, Phielix E, Koliaki C, Marcucci M, Zhang D, Jelenik T, Müller J, Herder C, Nowotny P, Shulman GI, Roden M. Role of diacylglycerol activation of

PKC in lipid-induced muscle insulin resistance in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111 (26): 9597-9602

(61) Pratipanawatr W, Pratipanawatr T, Cusi K, Berria R, Adams JM, Jenkinson CP, Maezono K, DeFronzo RA, Mandarino LJ. Skeletal muscle insulin resistance in normoglycemic subjects with a strong family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin-stimulated insulin receptor substrate-1 tyrosine phosphorylation. *Diabetes*. 2001; 50 (11): 2572-2578

(62) Perry R. J., Samuel V. T., Petersen K. F., Shulman G. I. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2014; 510 (7503): 84–91

(63) Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999; 257 (1): 79-83

(64) Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, Retzlaff BM, Knopp RH, Brunzell JD, Kahn SE. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*. 2003; 46 (4): 459-469

(65) Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med*. 2014; 371 (23): 1131-1141

(66) Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, Rittig K, Balletshofer B, Machicao F, Fritsche A, Häring HU. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med*. 2008; 168 (15): 1609-1616

(67) Perseghin G, Scifo P, Danna M, Piceni Sereni L, Maffi P, Battezzati A, De Cobelli F, Secchi A, Del Maschio A, Luzi L. Normal insulin sensitivity and IMCL content in overweight humans are associated with higher fasting lipid oxidation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2002; 283 (3): E556-E564

(68) Perseghin G. Lipids in the wrong place: visceral fat and nonalcoholic steatohepatitis. *Diabetes Care*. 2011; 34 (2): 367-370

(69) Koliaki C, Szendroedi J, Kaul K, Jelenik T, Nowotny P, Jankowiak F, Herder C, Carstensen M, Krausch M, Knoefel WT, Schlensak M, Roden M. Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis. *Cell Metab* 2015; 21(5) :739-746

(70) Marchetti P, Dotta F, Lauro D, Purrello F. An overview of pancreatic beta-cell defects in human type 2 diabetes: implications for treatment. *Regul Pept*. 2008; 146 (1-3): 4-11

- (71) Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC. Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52 (1): 102-110
- (72) Rahier J, Guiot Y, Goebbels RM, Sempoux C, Henquin JC. Pancreatic β -cell mass in European subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2008; 10 (4): 32-42
- (73) Simmons RA, Templeton LJ, Gertz SJ. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes*. 2001; 50 (10): 2279-2286
- (74) Pinney SE, Simmons RA. Epigenetic mechanisms in the development of type 2 diabetes. *Trends Endocrinol Metab*. 2010; 21 (4): 223-229
- (75) Menge BA, Tannapfel A, Belyaev O, Drescher R, Müller C, Uhl W, Schmidt WE, Meier JJ. Partial pancreatectomy in adult humans does not provoke β -cell regeneration. *Diabetes*. 2008; 57 (1): 142-149
- (76) Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1999; 104 (6): 787-794
- (77) Mitrakou A, Kelley D, Mokan M, Veneman T, Pangburn T, Reilly J, Gerich J. Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. *N Engl J Med*. 1992; 326 (1): 29
- (78) Kanat M, Mari A, Norton L, Winnier D, DeFronzo RA, Jenkinson C, Abdul-Ghani MA. Distinct β -cell defects in impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance. *Diabetes*. 2012; 61 (2): 447-453
- (79) Hosker JP, Rudenski AS, Burnett MA, Matthews DR, Turner RC. Similar reduction of first- and second-phase B-cell responses at three different glucose levels in type II diabetes and the effect of gliclazide therapy. *Metabolism*. 1989; 38 (8): 767-772
- (80) Bacha F, Gungor N, Lee S, Arslanian SA. In vivo insulin sensitivity and secretion in obese youth: what are the differences between normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes? *Diabetes*. 2009; 58 (1): 100-105
- (81) Polonsky KS, Given BD, Hirsch LJ, Tillil H, Shapiro ET, Beebe C, Frank BH, Galloway JA, Van Cauter E. Abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1988; 318 (19): 1231-1239
- (82) Marshak S, Leibowitz G, Bertuzzi F, Socci C, Kaiser N, Gross DJ, Cerasi E, Melloul D. Impaired beta-cell functions induced by chronic exposure of cultured human pancreatic islets to high glucose. *Diabetes*. 1999; 48 (6): 1230-1236
- (83) Robertson RP. Type II diabetes, glucose “non-sense,” and islet desensitization. *Diabetes*. 1989; 38 (12): 1501-1505

- (84) Vague P, Moulin JP. The defective glucose sensitivity of the B cell in non insulin dependent diabetes. Improvement after twenty hours of normoglycaemia. *Metabolism*. 1982; 31 (2): 139-142
- (85) Harmon JS, Gleason CE, Tanaka Y, Oseid EA, Hunter-Berger KK, Robertson RP. In vivo prevention of hyperglycemia also prevents glucotoxic effects on PDX-1 and insulin gene expression. *Diabetes*. 1999; 48 (10): 1995-2000
- (86) Robertson RP. β -cell deterioration during diabetes: what's in the gun? *Trends Endocrin Metab*. 2009; 20 (8): 388-393
- (87) Grankvist K, Marklund SL, Taljedal IB. CuZn-superoxide dismutase, Mn-superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in pancreatic islets and other tissues in the mouse. *J Biol Chem*. 1981; 199 (2): 393-398
- (88) Harmon JS, Stein R, Robertson RP. Oxidative stress-mediated, post-translational loss of MafA protein as a contributing mechanism to loss of insulin gene expression in glucotoxic beta cells. *J Biol Chem*. 2005; 280 (12): 11107-11113
- (89) Giacca A, Xiao C, Oprescu AI, Carpentier AC, Lewis GF. Lipid-induced pancreatic β -cell dysfunction: focus on in vivo studies. *Am J Physiol*. 2011; 300 (2): 255-262
- (90) Newsholme P, Keane D, Welters HJ, Morgan NG. Life and death decisions of the pancreatic beta-cell: the role of fatty acids. *Clin Sci*. 2007; 112 (1): 27-42
- (91) Chan CB, De Leo D, Joseph JW, McQuaid TS, Ha XF, Xu F, Tsushima RG, Pennefather PS, Salapatek AM, Wheeler MB. Increased uncoupling protein-2 levels in β -cells are associated with impaired glucose-stimulated insulin secretion: mechanism of action. *Diabetes*. 2001; 50 (6): 1302-1310
- (92) Patanè G, Anello M, Piro S, Vigneri R, Purrello F, Rabuazzo AM. Role of ATP production and uncoupling protein-2 in the insulin secretory defect induced by chronic exposure to high glucose or free fatty acids and effects of peroxisome proliferator-activated receptor- γ inhibition. *Diabetes*. 2002; 51 (9): 2749-2756
- (93) Produit-Zengaffinen N, Davis-Lameloise N, Perreten H, Becard D, Gjinovci A, Keller PA, Wollheim CB, Herrera P, Muzzin P, Assimakopoulos-Jeannet F. Increasing uncoupling protein-2 in pancreatic β cells does not alter glucose-induced insulin secretion but decreases production of reactive oxygen species. *Diabetologia*. 2007; 50 (1): 84-93
- (94) Hoppa MB, Collins S, Ramracheya R, Hodson L, Amisten S, Zhang Q, Johnson P, Ashcroft FM, Rorsman P. Chronic palmitate exposure inhibits insulin secretion by dissociation of Ca^{2+} channels from secretory granules. *Cell Metab*. 2009; 10 (6): 455-465

- (95) Collins SC, Hoppa MB, Walker JN, Amisten S, Abdulkader F, Bengtsson M, Fearnside J, Ramracheya R, Toye AA, Zhang Q, Clark A, Gauguier D, Rorsman P. Progression of diet-induced diabetes in C57BL6J mice involves functional dissociation of Ca²⁺ channels from secretory vesicles. *Diabetes*. 2010; 59 (5): 1192-1201
- (96) Tushuizen ME, Bunck MC, Pouwels PJ, Bontemps S, van Waesberghe JH, Schindhelm RK, Mari A, Heine RJ, Diamant M. Pancreatic fat content and beta-cell function in men with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30 (11): 2916-2921
- (97) Saisho Y, Butler A, Butler P. Pancreatic fat content and beta-cell function in men with and without type 2 diabetes: response to Tushuizen et al. *Diabetes Care*. 2008; 31 (5): 38
- (98) Begovatz P, Koliaki C, Weber K, Strassburger K, Nowotny B, Nowotny P, Müssig K, Bunke J, Pacini G, Szendrödi J, Roden M. Pancreatic adipose tissue infiltration, parenchymal steatosis and beta cell function in humans. *Diabetologia*. 2015; 58 (7): 1646-1655.
- (99) Boden G, Chen X, Rosner J, Barton M. Effects of a 48-h fat infusion on insulin secretion and glucose utilization. *Diabetes*. 1995; 44 (10): 1239-1242
- (100) Kashyap S, Belfort R, Gastaldelli A, Pratipanawatr T, Berria R, Pratipanawatr W, Bajaj M, Mandarino L, DeFronzo R, Cusi K. A sustained increase in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in nondiabetic subjects genetically predisposed to develop type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003; 52 (10): 2461-2474
- (101) Carpentier A, Mittelman SD, Bergman RN, Giacca A, Lewis GF. Prolonged elevation of plasma free fatty acids impairs pancreatic β -cell function in obese nondiabetic humans but not in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2000; 49 (3): 399-408
- (102) Briaud I, Harmon JS, Kelpel CL, Segu VB, Poitout V. Lipotoxicity of the pancreatic β -cell is associated with glucose-dependent esterification of fatty acids into neutral lipids. *Diabetes*. 2001; 50 (2): 315-321
- (103) Fontés G, Zarrouki B, Hagman DK, Latour MG, Semache M, Roskens V, Moore PC, Prentki M, Rhodes CJ, Jetton TL, Poitout V. Glucolipotoxicity age-dependently impairs beta cell function in rats despite a marked increase in beta cell mass. *Diabetologia*. 2010; 53 (11): 2369-2379
- (104) Prentki M, Corkey BE. Are the β -cell signaling molecules malonyl-CoA and cytosolic long-chain acyl-CoA implicated in multiple tissue defects of obesity and NIDDM? *Diabetes*. 1996; 45 (3): 273-283
- (105) Poitout V. Glucolipotoxicity of the pancreatic beta-cell: myth or reality? *Biochem Soc Trans*. 2008; 36 (5): 901-904

- (106) Schulze MB, Hoffmann K, Boeing H, Linseisen J, Rohrmann S, Möhling M, Pfeiffer AF, Spranger J, Thamer C, Häring HU, Fritsche A, Joost HG. An accurate risk score based on anthropometric, dietary and lifestyle factors to predict the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007; 30 (3): 510-515
- (107) Schulze MB, Schulz M, Heidemann C, Schienkiewitz A, Hoffmann K, Boeing H. Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and meta-analysis. *Arch Intern Med*. 2007; 167 (9): 956-965
- (108) Krishnan S, Rosenberg L, Singer M, Hu FB, Djoussé L, Cupples LA, Palmer JR. Glycemic index, glycemic load, and cereal fiber intake and risk of type 2 diabetes in US black women. *Arch Intern Med*. 2007; 167 (21): 2304-2309
- (109) Hopping BN, Erber E, Grandinetti A, Verheus M, Kolonel LN, Maskarinec G. Dietary fiber, magnesium, and glycemic load alter risk of type 2 diabetes in a multiethnic cohort in Hawaii. *J Nutr*. 2010; 140 (1): 68-74
- (110) Juntunen KS, Laaksonen DE, Poutanen KS, Niskanen LK, Mykkanen HM. High-fiber rye bread and insulin secretion and sensitivity in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2003; 77 (2): 385-391
- (111) Juntunen K, Laaksonen D, Autio K, Niskanen L, Holst JH, Savolainen KH, Liukkonen KH, Poutanen KS, Mykkänen HM. Structural differences between rye and wheat bread but not total fibre content may explain the lower postprandial insulin response to rye bread. *Am J Clin Nutr*. 2003; 78 (5): 957-964
- (112) McIntosh GH, Noakes M, Royle PJ, Foster PR. Whole-grain rye and wheat foods and markers of bowel health in overweight middle-aged men. *Am J Clin Nutr*. 2003; 77 (4): 967-974
- (113) Giacco R, Lappi J, Costabile G, Kolehmainen M, Schwab U, Landberg R, Uusitupa M, Poutanen K, Pacini G, Rivellese AA, Riccardi G, Mykkänen H. Effects of rye and whole wheat versus refined cereal foods on metabolic risk factors: a randomised controlled two-centre intervention study. *Clin Nutr*. 2013; 32 (6): 941-949
- (114) Giacco R, Costabile G, Della Pepa G, Anniballi G, Griffio E, Mangione A, Cipriano P, Viscovo D, Clemente G, Landberg R, Pacini G, Rivellese AA, Riccardi G. A whole-grain cereal-based diet lowers postprandial plasma insulin and triglyceride levels in individuals with metabolic syndrome. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014; [Epub ahead of print]
- (115) Battilana P, Ornstein K, Minehira K, Schwarz JM, Acheson K, Schneiter P, Burri J, Jéquier E, Tappy L. Mechanisms of action of β -glucan in postprandial glucose metabolism in healthy men. *Eur J Clin Nutr*. 2001; 55 (5): 327-333

- (116) Smith CE, Tucker KL. Health benefits of cereal fibre: a review of clinical trials. *Nutr Res Rev.* 2011; 15: 1-14
- (117) Lattimer JM, Haub MD. Effects of dietary fiber and its components on metabolic health. *Nutrient.* 2010; 2 (12): 1266-1289
- (118) Weickert MO, Pfeiffer AF. Metabolic effects of dietary fiber consumption and prevention of diabetes. *J Nutr.* 2008; 138 (3): 439-442
- (119) Weickert MO, Mohlig M, Koebnick C, Holst JJ, Namsolleck P, Ristow M, Osterhoff M, Rochlitz H, Rudovich N, Spranger J, Pfeiffer AF. Impact of cereal fibre on glucose-regulating factors. *Diabetologia.* 2005; 48 (11): 2343-2353
- (120) Chandalia M, Garg A, Lutjohann D, Von Bergmann K, Grundy SM, Brinkley LJ. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2000; 342 (19): 1392-1398
- (121) Jang Y, Lee JH, Kim OY, Park HY, Lee SY. Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation, and plasma homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease: randomized controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21 (12): 2065-2071
- (122) Jenkins DJ, Kendall CW, Augustin LS, Martini MC, Axelsen M, Faulkner D, Vidgen E, Parker T, Lau H, Connelly PW, Teitel J, Singer W, Vandenbroucke AC, Leiter LA, Josse RG. Effect of wheat bran on glycemic control and risk factors for cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002; 25 (9): 1522-1528
- (123) van Dam RM, Hu FB. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA.* 2005; 294 (1): 97-104
- (124) van Dam RM, Feskens EJM. Coffee consumption and risk of type-2 diabetes. *Lancet.* 2002; 360 (9344): 1477-1478
- (125) van Dam RM, Dekker JM, Nijpels G, Stehouwer CD, Bouter LM, Heine RJ. Coffee consumption and incidence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes: the Hoorn Study. *Diabetologia.* 2004; 47 (12): 2152-2159
- (126) Bidel S, Hu G, Sundvall J, Kaprio J, Tuomilehto J. Effects of coffee consumption on glucose tolerance, serum glucose and insulin levels—a cross-sectional analysis. *Horm Metab Res.* 2006; 38 (1): 38-43
- (127) Arnlöv J, Vessby B, Risérus U. 2004. Coffee consumption and insulin sensitivity. *JAMA* 291 (10); 1199-1201

- (128) van Dam RM, Pasman WJ, Verhoef P. Effects of coffee consumption on fasting blood glucose and insulin concentrations: randomized controlled trials in healthy volunteers. *Diabetes Care*. 2004; 27 (12): 2990-2992
- (129) Keijzers GB, De Galan BE, Tack CJ, Smits P. Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans. *Diabetes Care*. 2002; 25 (2): 364-369
- (130) Graham TE, Sathasivam P, Rowland M, Marko N, Greer F, Battram D. Caffeine ingestion elevates plasma insulin response in humans during an oral glucose tolerance test. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001; 79 (7): 559-565
- (131) Greenberg JA, Owen DR, Geliebter A. Decaffeinated coffee and glucose metabolism in young men. *Diabetes Care*. 2010; 33 (2): 278-280
- (132) Loopstra-Masters RC, Liese AD, Haffner SM, Wagenknecht LE, Hanley AJ. Association between the intake of caffeinated and decaffeinated coffee and measures of insulin sensitivity and beta cell function. *Diabetologia*. 2011; 54 (2): 320-328
- (133) van Dam RM. Coffee and type 2 diabetes: from beans to beta-cells. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006; 16 (1): 69-77
- (134) Lane JD, Hwang AL, Feinglos MN, Surwit RS. Exaggeration of postprandial hyperglycemia in patients with type 2 diabetes by administration of caffeine in coffee. *Endocr Pract*. 2007; 13 (3): 239-243
- (135) Krebs JD, Parry-Strong A, Weatherall M, Carroll RW, Downie M. A cross-over study of the acute effects of espresso coffee on glucose tolerance and insulin sensitivity in people with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2012; 61 (9): 1231-1237
- (136) Aune D, Ursin G, Veierød MB. Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Diabetologia*. 2009; 52 (11): 2277-2287
- (137) Pan A, Sun Q, Bernstein AM, Schulze MB, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Red meat consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2011; 94 (4): 1088-1096
- (138) Lajous M, Tondeur L, Fagherazzi G, de Lauzon-Guillain B, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Processed and unprocessed red meat consumption and incident type 2 diabetes among French women. *Diabetes Care*. 2012; 35 (1): 128-130
- (139) Rajpathak SN, Crandall JP, Wylie-Rosett J, Kabat GC, Rohan TE, Hu FB. The role of iron in type 2 diabetes in humans. *Biochim Biophys Acta*. 2009; 1790 (7): 671-681
- (140) Tong M, Neusner A, Longato L, Lawton M, Wands JR, de la Monte SM. Nitrosamine exposure causes insulin resistance diseases: relevance to type 2 diabetes mellitus, non-alcoholic steatohepatitis, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2009; 17 (4): 827-844

- (141) Pereira EC, Ferderbar S, Bertolami MC, Faludi AA, Monte O, Xavier HT, Pereira TV, Abdalla DS. Biomarkers of oxidative stress and endothelial dysfunction in glucose intolerance and diabetes mellitus. *Clin Biochem.* 2008; 41 (18): 1454-1460
- (142) Eyre H, Kahn R, Robertson RM, Clark NG, Doyle C, Hong Y, Gansler T, Glynn T, Smith RA, Taubert K, Thun MJ, American Cancer Society, American Diabetes Association, American Heart Association. Preventing cancer, cardiovascular disease, and diabetes: a common agenda for the American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. *Circulation.* 2004; 109 (25): 3244-3255
- (143) Salmerón J, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Willett WC. Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73 (6): 1019-1026
- (144) Micha R, Mozaffarian D. Saturated fat and cardiometabolic risk factors, coronary heart disease, stroke, and diabetes: a fresh look at the evidence. *Lipids.* 2010; 45 (10): 893-905
- (145) Vergnaud AC, Norat T, Romaguera D, Mouw T, May AM, Travier N, Luan J, Wareham N, Slimani N, Rinaldi S, Couto E, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Cottet V, Palli D, Agnoli C, Panico S, Tumino R, Vineis P, Agudo A, Rodriguez L, Sanchez MJ, Amiano P, Barricarte A, Huerta JM, Key TJ, Spencer EA, Bueno-de-Mesquita B, Büchner FL, Orfanos P, Naska A, Trichopoulou A, Rohrmann S, Hermann S, Boeing H, Buijsse B, Johansson I, Hellstrom V, Manjer J, Wirfält E, Jakobsen MU, Overvad K, Tjønneland A, Halkjaer J, Lund E, Braaten T, Engeset D, Odysseos A, Riboli E, Peeters PH. Meat consumption and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA study. *Am J Clin Nutr.* 2010; 92 (2): 398-407
- (146) De Mello VD, Zelmanovitz T, Perassolo MS, Azevedo MJ, Gross JL. Withdrawal of red meat from the usual diet reduces albuminuria and improves serum fatty acid profile in type 2 diabetes patients with no albuminuria. *Am J Clin Nutr.* 2006; 83 (5): 1032-1038
- (147) Matthaei S, Bierwirth R, Fritsche A, Gallwitz B, Häring HU, Joost HG, Kellerer M, Kloos CH, Kunt T, Nauck M, Scherthaner G, Siegel E, Thienel F. Medikamentöse antihyperglykämische Therapie des Diabetes mellitus Typ 2. Update der Evidenzbasierten Leitlinie der Deutschen Diabetes-Gesellschaft. *Diabetologie.* 2009; 4: 32-64
- (148) Diabetes and Nutrition Study Group (DNSG) of the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Mann J, De Leeuw I, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese A, Slama G, Toeller M, Uusitupa M, Vessby B on behalf of the DNSG of the EASD. Evidence-based nutritional approaches to the treatment and prevention of diabetes mellitus. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2004; 14 (6): 373-394

- (149) Wirth A, Wabitsch M, Hauner H: Clinical practice guideline: The prevention and treatment of obesity. *Dtsch Arztebl Int.* 2014; 111 (42): 705-13
- (150) Booth M. Assessment of Physical Activity: An International Perspective. *RQES.* 2000; 71 (2): 114-120
- (151) Aubertin-Leheudre M, Koskela A, Marjamaa A, Adlercreutz H. Plasma alkylresorcinols and urinary alkylresorcinol metabolites as biomarkers of cereal fiber intake in Finnish women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008; 17 (9): 2244-2248
- (152) Kempf K, Herder C, Erlund I, Kolb H, Martin S, Carstensen M, Koenig W, Sundvall J, Bidel S, Kuha S, Tuomilehto J. Effects of coffee consumption on subclinical inflammation and other risk factors for type 2 diabetes: a clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91 (4): 950-957
- (153) Cross AJ, Major JM, Sinha R. Urinary biomarkers of meat consumption. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011; 20 (6): 1107-1111
- (154) Kahl S, Nowotny B, Piepel S, Nowotny PJ, Strassburger K, Herder C, Pacini G, Roden M. Estimates of insulin sensitivity from the intravenous-glucose-modified-clamp test depend on suppression of lipolysis in type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia.* 2014; 57 (10): 2094-2102.
- (155) Nowotny B, Nowotny PJ, Strassburger K, Roden M. Precision and accuracy of blood glucose measurements using three different instruments. *Diabet Med.* 2012; 29 (2): 260-265
- (156) Siemens. Packungsbeilage IMMULITE[®] 2000 Insulin for use on IMMULITE[®] 2000 Systems. PIL2KIN-29, 2009-10-06
- (157) Siemens. Packungsbeilage IMMULITE[®] 2000 C-Peptide for use on IMMULITE[®] 2000 Systems. PIL2KPEP-7, 2008-07-29 Siemens
- (158) Merck Millipore. Packungsbeilage GLP-1 Total ELISA 96-Well Plate Assay. EZGLP1T-36K. Rev. 28-FEB-2012
- (159) Merck Millipore. Packungsbeilage Human GIP (Total) 96-Well Plate Assay EZHGIP-54K Rev. 06-MAR-2012
- (160) Allison DB, Paultre F, Maggio C, Mezzitis N, Pi-Sunyer FX. The use of areas under the curves in diabetes research. *Diabetes Care.* 1995; 18 (2): 245-250
- (161) Maki KC, Kelley KM, Lawless AL, Hubacher RL, Schild AL, Dicklin MR, Rains TM. Validation of insulin sensitivity and secretion indices derived from the liquid meal tolerance test. *Diabetes Technol Ther.* 2011; 13 (6): 661-666
- (162) Brodovicz KG, Girman CJ, Simonis-Bik AM, Rijkkelijkhuizen JM, Zelis M, Bunck MC, Mari A, Nijpels G, Eekhoff EM, Dekker JM. Postprandial metabolic responses to mixed versus

liquid meal tests in healthy men and men with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011; 94 (3): 449-455

(163) Nowotny B, Zahiragic L, Bierwagen A, Kabisch S, Groener J, Nowotny PJ, Fleitmann AK, Herder C, Pacini G, Erlund I, Landberg R, Haering HU, Pfeiffer AF, Nawroth PP, Roden M. Low-energy diets differing in fibre, red meat and coffee-intake equally improve insulin sensitivity in type 2 diabetes: a randomised feasibility trial. *Diabetologia.* 2015; 58 (2): 255-264

(164) Ahren B. Incretin hormones and the up-regulation of insulin secretion in insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97 (4): 1173-1175

(165) Herzberg-Schäfer S, Heni M, Stefan N, Häring HU, Fritsche A. Impairment of GLP1-induced insulin secretion: role of genetic background, insulin resistance and hyperglycaemia. *Diabetes Obes Metab.* 2012; 14 (3): 85-90

(166) Vilsboll T, Krarup T, Madsbad S, Holst JJ. Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese type II diabetic patients. *Diabetologia.* 2002; 45 (8): 1111-1119

(167) Knop FK, Vilsboll T, Hojberg PV, Larsen S, Madsbad S, Vølund A, Holst JJ, Krarup T. Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes.* 2007; 56 (8): 1951-1959

(168) Roger B, Papin J, Vacher P, Raoux M, Mulot A, Dubois M, Kerr-Conte J, Voy BH, Pattou F, Charpentier G, Jonas JC, Moustaid-Moussa N, Lang J. Adenylyl cyclase 8 is central to glucagon-like peptide 1 signalling and effects of chronically elevated glucose in rat and human pancreatic beta cells. *Diabetologia.* 2011; 54 (2): 390-402

(169) Hojberg PV, Vilsboll T, Rabol R, Knop FK, Bache M, Krarup T, Holst JJ, Madsbad S. Four weeks of nearnormalisation of blood glucose improves the insulin response to glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic polypeptide in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2009; 52 (2): 199-207

(170) Vigiou E, Kendall CW, Blanco Mejia S, Cozma AI, Ha V, Mirrahimi A, Jayalath VH, Augustin LS, Chiavaroli L, Leiter LA, de Souza RJ, Jenkins DJ, Sievenpiper JL. Effect of tree nuts on glycemic control in diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled dietary trials. *PLoS One.* 2014; 9 (7): e103376

(171) Brunham LR, Kruit JK, Verchere CB, Hayden MR. Cholesterol in islet dysfunction and type 2 diabetes. *J Clin Invest.* 2008; 118 (2): 403-408

(172) Tremblay A, Gilbert JA. Milk products, insulin resistance syndrome and type 2 diabetes. *J Am Coll Nutr.* 2009; 28 (1): 91-102

- (173) Le Floch JP, Escuyer P, Baudin E, Baudon D, Perlemuter L. Blood glucose area under the curve. Methodological aspects. *Diabetes Care*. 1990; 13: 172–175
- (174) Potteiger JA, Jacobsen DJ, Donnelly JE. A comparison of methods for analyzing glucose and insulin areas under the curve following nine months of exercise in overweight adults. *Int J Obes*. 2002; 26 (1): 87-89
- (175) Tsai EB, Sherry NA, Palmer JP, Herold KC. The Rise and Fall of Insulin Secretion in type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2006; 49 (2): 261-270
- (176) Pozzilli P, Raz I, Peled D, Elias D, Avron A, Tamir M, Eren R, Dagan S, Cohen IR. Evaluation of long-term treatment effect in a type 1 diabetes intervention trial: differences after stimulation with glucagon or a mixed meal. *Diabetes Care*. 2014; 37 (5): 1384-1391
- (177) Greenbaum CJ. Dead or alive? *Diabetes Care*. 2012; 35 (3): 459-460
- (178) Skyler JS. Struggles with clinical translation of immune intervention trials. *Diabetes Care*. 2014; 37 (5): 1173-1175
- (179) Kodama S, Saito K, Tanaka S, Maki M, Yachi Y, Sato M, Sugawara A, Totsuka K, Shimano H, Ohashi Y, Yamada N, Sone H. Influence of fat and carbohydrate proportions on the metabolic profile in patients with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*. 2009; 32 (5): 959-965
- (180) Anderson JW, Randles KM, Kendall CW, Jenkins DJ. Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *J Am Coll Nutr*. 2004; 23 (1): 5-17
- (181) Heilbronn LK, Noakes M, Clifton PM. Effect of energy restriction, weight loss, and diet composition on plasma lipids and glucose in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 1999; 22 (6): 889-895
- (182) Krebs M, Brehm A, Krssak M, Anderwald C, Bernroider E, Nowotny P, Roth E, Chandramouli V, Landau BR, Waldhäusl W, Roden M. Direct and indirect effects of amino acids on hepatic glucose metabolism in humans. *Diabetologia*. 2003; 46 (7): 917-925

7 Anlagen

Anlage 1

Selbsttest

Mit Hilfe des Deutschen Diabetes-Risiko-Tests® (DRT) können Sie Ihr persönliches Risiko ermitteln, innerhalb der nächsten 5 Jahre an einem Typ-2-Diabetes zu erkranken. Der Test ist nicht anwendbar, wenn bei Ihnen bereits ein Diabetes bekannt ist.

Alter

Wie alt sind Sie in Jahren?

- | | | | |
|--------------------------------|----------|--------------------------------|-----------|
| <input type="checkbox"/> < 35 | 0 Punkte | <input type="checkbox"/> 50-54 | 7 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 35-39 | 1 Punkt | <input type="checkbox"/> 55-59 | 9 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 40-44 | 3 Punkte | <input type="checkbox"/> 60-64 | 11 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 45-49 | 5 Punkte | <input type="checkbox"/> 65-70 | 13 Punkte |

Körperliche Aktivität

Sind Sie pro Woche mindestens 5 Stunden aktiv? (z.B. Sport, Gartenarbeit, Radfahren)

- | | | | |
|-------------------------------|---------|-----------------------------|----------|
| <input type="checkbox"/> nein | 1 Punkt | <input type="checkbox"/> ja | 0 Punkte |
|-------------------------------|---------|-----------------------------|----------|

Bluthochdruck

Wurde bei Ihnen schon einmal ein Bluthochdruck festgestellt?

- | | | | |
|-------------------------------|----------|-----------------------------|----------|
| <input type="checkbox"/> nein | 0 Punkte | <input type="checkbox"/> ja | 5 Punkte |
|-------------------------------|----------|-----------------------------|----------|

Vollkornbrotverzehr

Wie viele Scheiben Vollkornbrot essen Sie am Tag?

- | | | | |
|----------------------------|----------|------------------------------|----------|
| <input type="checkbox"/> 0 | 5 Punkte | <input type="checkbox"/> 3 | 2 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 1 | 4 Punkte | <input type="checkbox"/> 4 | 1 Punkt |
| <input type="checkbox"/> 2 | 3 Punkte | <input type="checkbox"/> > 4 | 0 Punkte |

Fleischkonsum

Wie oft essen Sie Rind-, Schweine- oder Lammfleisch (keine Wurstwaren)?

- | | |
|---|----------|
| <input type="checkbox"/> Nie oder sehr selten | 0 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 1-2 mal je Woche | 1 Punkt |
| <input type="checkbox"/> 3-4 mal je Woche | 2 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 5-6 mal je Woche | 4 Punkte |
| <input type="checkbox"/> Täglich | 5 Punkte |
| <input type="checkbox"/> Mehrmals täglich | 8 Punkte |

Kaffee

Wie viele Tassen Kaffee trinken Sie am Tag?

- | | |
|------------------------------|----------|
| <input type="checkbox"/> 0-1 | 2 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 2-5 | 1 Punkt |
| <input type="checkbox"/> > 5 | 0 Punkte |



Rauchen

Welchen Raucherstatus haben Sie?

- | | |
|--|----------|
| <input type="checkbox"/> Ich habe nie geraucht | 0 Punkte |
| <input type="checkbox"/> Ich habe mal durchschnittlich weniger als 20 Zigaretten am Tag geraucht | 0 Punkte |
| <input type="checkbox"/> Ich habe mal durchschnittlich 20 Zigaretten oder mehr am Tag geraucht | 3 Punkte |
| <input type="checkbox"/> Ich rauche durchschnittlich weniger als 20 Zigaretten am Tag | 0 Punkte |
| <input type="checkbox"/> Ich rauche durchschnittlich 20 Zigaretten oder mehr am Tag | 6 Punkte |

Alkohol

Wie viele Gläser alkoholischer Getränke trinken Sie am Tag?

- | | |
|--|----------|
| <input type="checkbox"/> Ich trinke keinen oder nur gelegentlich Alkohol | 2 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 1-4 | 0 Punkte |
| <input type="checkbox"/> > 4 | 2 Punkte |

Körpergröße

Wie groß sind Sie in Zentimetern?

- | | | | |
|----------------------------------|-----------|----------------------------------|----------|
| <input type="checkbox"/> < 152 | 11 Punkte | <input type="checkbox"/> 176-183 | 3 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 152-159 | 9 Punkte | <input type="checkbox"/> 184-191 | 1 Punkt |
| <input type="checkbox"/> 160-167 | 7 Punkte | <input type="checkbox"/> ≥ 192 | 0 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 168-175 | 5 Punkte | | |

Taillenumfang

Wie groß ist Ihr Taillenumfang in Zentimetern?

- | | | | |
|--------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|
| <input type="checkbox"/> < 75 | 0 Punkte | <input type="checkbox"/> 100-104 | 24 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 75-79 | 4 Punkte | <input type="checkbox"/> 105-109 | 28 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 80-84 | 8 Punkte | <input type="checkbox"/> 110-114 | 32 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 85-89 | 12 Punkte | <input type="checkbox"/> 115-119 | 36 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 90-94 | 16 Punkte | <input type="checkbox"/> ≥ 120 | 40 Punkte |
| <input type="checkbox"/> 95-99 | 20 Punkte | | |

Addieren Sie alle Punkte, die den Antworten zugeordnet wurden. Auf dem Auswertungsbogen erfahren Sie, welches Risiko Ihrer Punktzahl entspricht.

SUMME

Punkte

Danksagungen

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. univ. Michael Roden, danke ich für die Vergabe des interessanten Promotionsthemas und für die Möglichkeit, die Arbeit am DDZ als Teil der DDIET-Studie durchführen zu können. Bedanken möchte ich mich auch für seine jederzeit gewährte Unterstützung und wertvollen Anregungen.

Ein großer Dank geht an meine Betreuerin, Frau Dr. med. Lejla Zahiragic, ohne die ich nie die Begeisterung und Motivation für das wissenschaftliche Arbeiten entwickelt hätte. Sie hat mich während meiner Promotionsphase unterstützt, war Tag und Nacht für mich da und hat mir mit ihren Ideen, ihrer konstruktiven Kritik und ihrer herzlichen Art immer wieder neuen Ansporn gegeben. Lejla, ich danke dir von ganzem Herzen für die unvergessliche Zeit unserer Zusammenarbeit!

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. med. Bettina Nowotny, die stets eine Ansprechpartnerin war und mit hilfreichen Ratschlägen und aufmunternden Worten zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ich danke der Arbeitsgruppe „Klinisches Studienzentrum“ um Herrn Prof. Dr. Karsten Müssig und Frau Dr. med. univ. Ph. D. Julia Szendrödi für die ausgesprochen angenehme Arbeitsatmosphäre und die produktive wissenschaftliche Zusammenarbeit. Besonders Anne Junker, Dagmar Caasen-Findeisen, Petra Heidkamp und Agnieszka Sutkowski danke ich für die freundliche Aufnahme im DDZ, die Einführung in die klinisch-wissenschaftlichen Untersuchungen und die große Unterstützung bei der Durchführung der DDIET-Studie.

Bei Herrn Ing. chem. Peter Nowotny und dem Team des technischen Labors möchte ich mich für die Hilfe bei meinem Forschungsprojekt und die Durchführung der Laboranalysen bedanken.

Meinen Eltern danke ich ganz herzlich für ihre liebevolle Unterstützung und unermüdliche Motivation sowie für das große Interesse an meiner Arbeit.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

Düsseldorf, den 11.12.2015

Ann Kristin Fleitmann