

Aus der

Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin IV

Diabetologie, Endokrinologie und Nephrologie

**Mechanismen und Nutzen der Prädiabetes-Remission durch
Lebensstilintervention**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Sandforth, Arvid, geb. Köhn

2025

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. R. Jumpertz-von Schwartzberg

2. Berichterstatter: Professor Dr. J. Nordmeyer, Ph.D.

3. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. S. Meyhöfer

Tag der Disputation: 06.06.2025

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	6
1. Einleitung	7
1.1 Hintergrund und Relevanz	7
1.1 Mikroangiopathische Komplikationen	9
1.2 Makroangiopathische Komplikationen	11
1.3 Heterogenität des Prädiabetes und des Diabetes mellitus Typ 2	11
1.4 Effekte der Lebensstilintervention	14
1.5 Die Prädiabetes Lebensstil-Interventionsstudie (PLIS)	15
2 Methoden und Resultate	18
2.1 <i>Mechanisms of weight loss-induced remission in people with prediabetes: a post-hoc analysis of the randomised, controlled, multicentre Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS)</i>	18
2.1.1 Abstract	18
2.1.2 Funding	20
2.1.3 Research in context	20
2.1.4 Introduction	21
2.1.5 Methods	23
2.1.6 Results	28
2.1.7 Discussion	38
2.2 <i>Lower Hepatic Fat Is Associated With Improved Insulin Secretion in a High-Risk Prediabetes Subphenotype During Lifestyle Intervention</i>	42
2.2.1 Abstract	42
2.2.2 Introduction	43
2.2.3 Methods	43
2.2.4 Results	45
2.2.5 Discussion	48
3. Diskussion	50
3.1 Twin Cycle - Hypothese	50
3.2 <i>Assoziation von intrahepatischem Lipidgehalt und viszeralem Fettgewebe mit der Insulinresistenz</i>	52
3.2 Die Rolle der Mikroinflammation	53
3.3 <i>Klinische Bedeutung der Prädiabetes-Remission</i>	54
3.4 <i>Prädiabetes-Remission als Prävention: Implikationen zur Änderung der Leitlinie</i>	55
3.5 <i>Clusterspezifische Unterschiede in den Mechanismen der Verbesserung der Glukoseregulation durch Lebensstilintervention</i>	57
3.6 <i>Stärken und Limitationen</i>	58
4. Zusammenfassung	60
5. Erklärung zum Eigenanteil	61
6. Literatur	63

Abkürzungsverzeichnis

¹ HMRs	¹ H Magnetresonanz-Spektroskopie
ADA	American Diabetes Association
AGES	Advanced glycylation end products
AUC	Area under the curve
AU	Arbitrary units
BMI	Body Mass Index
CA	California
CoA	Coenzym A
CT	Computed tomography
DIRECT	Diabetes Remission Clinical Trial
DPP	Diabetes Prevention Program
DPPOS	Diabetes Prevention Program Outcomes Study
DZD	Deutsches Zentrum für Diabetesforschung
eNOS	endothelial nitric oxide synthetase
FDR	False discovery rate
FFA	Free fatty acids
FPG	Fasting plasma glucose
GLUT4	Glucose transporter type 4
HbA1c	Glykhämoglobin
HDL	High density lipoprotein
HOMA-IR	Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance
ICAM1	Intercellular adhesion molecule 1
IFN γ	Interferon gamma
IGT	Impaired glucose tolerance
IHL	Intrahepatic lipid content
IL	Interleukin
IQR	Interquartile range
ISI	Insulin sensitivity index, Matsuda-Index
LDL	Low density lipoprotein
LI	Lifestyle intervention
MRI	Magnetic resonance imaging
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MRT	Magnetresonanztomographie
NADPH	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NGR	Normal glucose regulation
NF- κ B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
OGIS	Oral glucose insulin sensitivity index
oGTT	Oraler Glukosetoleranztest
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor-1
PKC	Protein kinase C
PLIS	Prädiabetes-Lebensstilinterventions-Studie
ROS	Reactive oxygen species
RSOM	Raster scan optoacoustic mesoscopy
SD	Standard deviation
TGF- β	Transforming growth factor beta
TNF	Tumor necrosis factor

TX	Texas
uACR	Urinary albumin-creatinin ratio
USA	United States of America
US	United States
VAT	Visceral adipose tissue
VCAM1	vascular cell adhesion molecule 1
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VLDL	Very low density lipoprotein

Abbildungsverzeichnis

Titel	Beschreibung	Seite
Table 1	Baseline characteristics (Sandforth <i>et al.</i> , 2023)	29
Figure 1	Glucose regulation and basic anthropometric characteristics (Sandforth <i>et al.</i> , 2023)	30
Figure 2	Indexes of insulin sensitivity and insulin secretion (Sandforth <i>et al.</i> , 2023)	32
Figure 3	MRI and 1H-MRS-based assessment of body-fat distribution and stratification of response (Sandforth <i>et al.</i> , 2023)	34
Figure 4	Glucose-regulation trajectories and uACR at 3 years (Sandforth <i>et al.</i> , 2023)	36
Figure 5	Cluster-specific change of glycemia, insulin sensitivity, liver fat, and insulin secretion during LI with influence of liver fat on change of insulin secretion during LI (Wagner <i>et al.</i> , 2022)	46

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater, Mentor und Freund Herrn Professor Dr. med. Reiner Jümpertz-von Schwartzberg für seinen unerschütterlichen Optimismus, seine ansteckende rheinische Lebensfreude und seine unerbittlich-geduldigen Versuche, seine herausragenden menschlichen und fachlichen Fähigkeiten an mich weiterzugeben.

Herrn Professor Dr. med. Andreas L. Birkenfeld danke ich für seine inspirierendes Beispiel und seinen unermüdlichen Einsatz für die Förderung meiner wissenschaftlichen Entwicklung.

Der ultimative Dank gebührt meinen Eltern, Frau Ella Ingeborg Köhn, geb. Herfort, und Herrn Dr. med. Falko Sigwalt Köhn, für ihre bedingungslose Unterstützung.

Vor allem danke ich meiner Frau Leontine Sophie Sandforth für Ihren unverbrüchlichen Glauben an unsere gemeinsame Sache. Erst Ihre Liebe ermöglicht jeden Schritt, den ich gehe.

1. Einleitung

1.1 Hintergrund und Relevanz

Diabetes mellitus Typ 2 kostet jährlich allein in Deutschland schätzungsweise 268,000 Lebensjahre (Rommel *et al.*, 2018). In den Vereinigten Staaten leiden 14,7% aller Erwachsenen an Diabetes mellitus Typ 2 (CDC, 2024). Bereits zum Zeitpunkt der Diagnose leidet die Mehrzahl der Patienten unter Komorbiditäten wie zum Beispiel Neuropathie, chronischer Nierenerkrankung oder kardiovaskulären Erkrankungen (Bonora *et al.*, 2020). Diabetes mellitus Typ 2 ist bereits jetzt unter den Top 10 der führenden Todesursachen weltweit (Khan *et al.*, 2019). Dabei zeigt sich ein globaler Trend zunehmender Inzidenzen, der Prognosen zufolge hauptsächlich Menschen in Ländern mit mittlerem oder niedrigem Einkommen treffen wird, wo bereits jetzt leitliniengerechte Therapien mit dem Potential, kardiovaskuläre Erkrankungen und Mortalität zu reduzieren, aufgrund verschiedenster sozioökonomischer und logistischer Hürden nicht im gleichen Maße zur Verfügung stehen, wie in wirtschaftlich starken Ländern, die gegenwärtig die höchsten Diabetes-Prävalenzen zu beklagen haben (Nowakowska *et al.*, 2019).

Dabei ist Prädiabetes der wichtigste Risikofaktor für die Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 (Tabák *et al.*, 2012). Es existieren verschiedene Definitionen des Prädiabetes. Herangezogen werden zur Definition Nüchtern-Glukosekonzentration, die Glukosekonzentration 2 Stunden nach Ingestion von 75 Gramm Glukose (oraler Glukosetoleranztest, oGTT) und das Glycohämoglobin (HbA1c). Nach der Definition der World Health Organisation (WHO) ist ein Prädiabetes zu diagnostizieren, wenn im nüchternen Zustand die Glukosekonzentration zwischen 110 und 125 mg/dL (6,1 bis 6,9 mmol/L) beträgt, die 2-Stunden-Glukosekonzentration zwischen 140 und 199 mg/dL (7,8 bis 11,0 mmol/L) liegt oder das Glycohämoglobin zwischen 5,7 und 6,4% (39 bis 47 mmol/L) messbar ist (World Health Organization and International Diabetes Federation, 2006). Die Definition der amerikanischen Diabetesassoziation (ADA) unterscheidet sich von dieser Definition durch eine strengere Untergrenze bei der Nüchtern-Glukosekonzentration (ADA-Definition: 100 bis 125 mg/dL oder 5,6 bis 6,9 mmol/L). In der folgenden Arbeit findet durchgängig die Prädiabetes-

Definition der ADA Anwendung, da nur hier entsprechende Leitlinien zur Behandlung des Prädiabetes vorliegen (EISayed *et al.*, 2023).

Die globale Prävalenz eingeschränkter Glukosetoleranz lag 2021 bei 9,1%, was 464 Millionen Betroffenen entspricht (Rooney *et al.*, 2023). Im Zusammenhang mit einem stetigen und globalen BMI-Anstieg, der Adipositas-Pandemie, sind deutliche Anstiege dieser Prävalenzen prognostiziert. Schätzungsweise 10% der Weltbevölkerung wird im Jahr 2045 mit Prädiabetes leben (Rooney *et al.*, 2023). Die jährliche Konversionsrate von Prädiabetes zum Diabetes mellitus Typ 2 liegt zwischen 5-10%, das Lebenszeitrisiko einer Konversion ab einem Lebensalter von 45 Jahren beträgt 74% (Ligthart *et al.*, 2016). Dabei herrscht beträchtliche begriffliche Unschärfe. Sowohl der Begriff Prädiabetes selbst, als auch die Einstufung von Prädiabetes als Krankheit wird kritisch diskutiert (Stefan, 2023). Für eine Einstufung von Prädiabetes bereits als Erkrankung spricht, das auch andere Erkrankungen als Diabetes mellitus Typ 2, insbesondere die diabetische Nephropathie, kardiovaskuläre Erkrankungen, verschiedene Arten von Neoplasien sowie neurodegenerative Erkrankungen in ihrer Inzidenz mit steigenden Glukosespiegeln zunehmen (Tabák *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2014; Chow *et al.*, 2019). Vor allem aufgrund von kardiovaskulären, malignen und neurodegenerativen Erkrankungen befinden sich der lang anhaltende Trend stetig steigender Lebenserwartung an seinem Ende oder ist bereits umgekehrt (Vollset *et al.*, 2024). Die genannten, hauptsächlich für diese Trendumkehr verantwortlichen Erkrankungen haben als Risikofaktor eine prädiabetische Stoffwechsellage gemeinsam. Ein Verständnis des Prädiabetes als Krankheit hätte bezüglich der Implementierung dringend erforderlicher Präventionsmaßnahmen wichtige Vorteile. Obwohl die arbiträre Dichotomie normale Glukoseregulation - Prädiabetes oder auch Prädiabetes - Diabetes mellitus Typ 2 vor dem Hintergrund des abzubildenden Kontinuums zunehmender Glukoseintoleranz kritisierbar ist, werden durch die Einführung des Krankheitsbegriffs Prädiabetes nach der Definition der amerikanischen Diabetesassoziation die wichtigsten Bereiche eines erhöhten Krankheitsrisikos auf Grundlage erhöhter Glukosespiegel als interventionsbedürftig klassifiziert (Huang *et al.*, 2016).

Die aktuelle Behandlungsleitlinie für den Diabetes mellitus Typ 2 der amerikanischen Diabetesassoziation enthält eine Sektion zum Prädiabetes. Hier

wird auf Basis der Ergebnisse der U.S. amerikanischen Studie DPP (Diabetes Prevention Program) und DPPOS (DPP Outcomes Study) eine Lebensstilintervention mit dem Ziel einer Reduktion des Körpergewichts um mindestens 7% empfohlen. Die Leitlinie enthält konkrete Handlungsempfehlungen, wie ein solcher Gewichtsverlust erreicht und aufrecht erhalten werden soll (gesunde, kalorienreduzierte Diät, ≥ 150 Minuten körperlicher Aktivität pro Woche), jedoch keine über den Körpergewichtsverlust hinausgehenden Therapieziele (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2023).

Der Verlust an gesunden Lebensjahren, der mit Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert ist, kommt durch eine Reihe an Folgeerkrankungen zustande. Im Versuch, diese Erkrankungen zu systematisieren, hat sich deren Klassifizierung in Gruppen etabliert (Fowler, 2011). Diese Klassifizierung soll im Folgenden dargestellt und kommentiert sein.

1.1 Mikroangiopathische Komplikationen

Die Genese der mikroangiopathischen Komplikationen ist pathophysiologisch identisch mit denen der makroangiopathischen Komplikationen. Im Unterschied zu diesen sind sie jedoch Folgen der Schädigung von Blutgefäßen kleineren Kalibers. Sie umfassen die diabetische Retinopathie, die diabetische Nephropathie und die diabetische Neuropathie.

Die diabetische Retinopathie ist für eine Vielzahl an Erblindungen verantwortlich (Fong *et al.*, 2004). Insbesondere ausgeprägte Hyperglykämie und das parallele Bestehen einer arteriellen Hypertonie sind wichtige Risikofaktoren (Keenan *et al.*, 2007). Die pathophysiologischen Prozesse, die in einer diabetischen Retinopathie münden, beginnen viele Jahre vor der Manifestation eines Diabetes mellitus Typ 2 (Fong *et al.*, 2004). Mechanistisch ist für die Entstehung dieser Komplikation die Aldose-Reduktase entscheidend, die den Ausgangspunkt des intrazellulären Polyol-Stoffwechselfades bildet, der zur Entstehung von Sorbitol aus Glukose führt. Der im Umfeld hoher Flüsse durch den Polyol-Stoffwechselfad entstehende Sorbitol-Exzess bedeutet osmotischen Stress und geht mit der Bildung von Mikro-Aneurysmen, der Verdickung von Basalmembranen und dem Untergang von Perizyten einher und trägt so zur

retinalen Schädigung bei (Gabbay, 1975). Auch die nicht-enzymatische Entstehung von *advanced glycation end products* (AGES) wird durch hohe Glukosekonzentrationen begünstigt (Fong *et al.*, 2004). Oxidativer Stress, der im Rahmen des Energieexzesses, den eine chronische Hyperglykämie bedeutet, vermehrt auftritt, führt zur Entstehung freier Radikale und reaktiver Sauerstoffspezies (ROS). Diese hoch reaktionsfreudigen Moleküle tragen zur Gewebsschädigung bei (Fong *et al.*, 2004). Da im Verlauf der diabetischen Retinopathie eine Gewebhypoxie auftritt, steigt die lokale Produktion des *vascular endothelial growth factors* (VEGF), was eine maladaptive Proliferation retinaler Blutgefäße zur Folge hat (Keenan *et al.*, 2007). Zudem führen all diese Mechanismen zu Zellschädigung und so indirekt zur Rekrutierung von Makrophagen, die eine Inflammationskaskade anstoßen, die zu weiteren Gewebeschäden und in der Folge Fibrosierung führen (Donath *et al.*, 2013). Darüber hinaus erfolgt eine direkte Aktivierung von Immunzellen durch Cholesterin-Kristalle und freie Fettsäuren (Donath *et al.*, 2013).

Ein weiterer Mechanismus der Komplikationsentstehung ist eng mit der Pathophysiologie der Insulinresistenz vergesellschaftet. Energieabundanz, insbesondere die Zufuhr von freien Fettsäuren, führt zu erhöhter intramembranöser Konzentration von sn-1,2-Diacylglycerol, was eine Aktivierung verschiedener Proteinkinase-C-Isoformen (insbesondere θ und ϵ) zur Folge hat, die wiederum Phosphorylierungen katalysieren, die den ungehinderten Ablauf der intrazellulären Insulin-Signalkaskade stören und auf diese Weise Insulinresistenz hervorrufen (Roden and Shulman, 2019). Die parallel erfolgende Aktivierung der Proteinkinase-C-Isoformen β und δ hat ebenso weitreichende Folgen. Erhöhung inflammatorischer Aktivität infolge von NF- κ B-Aktivierung, Steigerung der NADPH-Oxidase-Aktivität mit daraus resultierendem Anstieg an reaktiver Sauerstoffspezies, TGF- β -Aktivierung mit folgender Fibrosierung sowie reduzierter Fibrinolyse nach PKC-vermittelter Inhibierung von PAI-1, reduzierte Aktivität der endothelial nitric oxide synthetase (eNOS) und erhöhte Aktivität von Endothelin-1, woraus sich Störungen der Mikrozirkulation ergeben sowie Erhöhung der VEGF-Aktivität, was zu vermehrter Angiogenese führt (Brownlee, 2001).

Die diabetische Nephropathie ist die häufigste Ursache eines Nierenversagens und der Dialysepflichtigkeit (Levin *et al.*, 2017). Die Pathomechanismen unterscheiden sich nicht wesentlich von denen der diabetischen Retinopathie. Auch die Entstehungsmechanismen der diabetischen Polyneuropathie sowie der diabetischen autonomen Neuropathie sind ähnlich denen der Vaskulopathien. Hinzu kommt eine ischämische Komponente, die durch eine Mikroangiopathie der neuralen Vaskularisierung bedingt ist.

1.2 Makroangiopathische Komplikationen

Neben den bereits diskutierten Vorgängen, die zu mikroangiopathischen Komplikationen führen, ist für die Entstehung makrovaskulärer Komplikationen die Plaquebildung entscheidend. Neben den oben beschriebenen Prozessen der Mikroinflammation trägt hierzu auch das Lipidprofil bei, das neben seiner in genetischen Untersuchungen nachgewiesenen zentralen Bedeutung für die Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 auch Folge der oral zugeführten Energieabundanz mit vermehrter de-novo Lipogenese mit erhöhten VLDL- und LDL-Konzentrationen ist (Boyle, 2007).

Als makroangiopathische Komplikationen werden die arteriellen Verschlusskrankheiten wie koronare Herzkrankheit, ischämischer Myokardinfarkt, ischämischer Schlaganfall und die periphere arterielle Verschlusskrankheit zusammengefasst.

Weitere Komplikationen wie neurodegenerative Erkrankungen und maligne Neoplasien, die mit dem Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert sind und deren Verlauf durch die Koinzidenz mit Diabetes mellitus Typ 2 ungünstig beeinflusst wird, tragen wesentlich zur vermehrten Sterblichkeit durch Diabetes mellitus bei (Huang *et al.*, 2014; Chow *et al.*, 2019).

1.3 Heterogenität des Prädiabetes und des Diabetes mellitus Typ 2

Diabetes mellitus Typ 2 manifestiert sich, wenn die Insulinsekretion aus pankreatischen Betazellen nicht in ausreichendem Maße erhöht werden kann, um für die zugrunde liegende Insulinresistenz zu kompensieren (Kahn, 1998; Tabák *et al.*, 2009).

Die bekannten Faktoren, die Betazell-Dysfunktion und Insulinresistenz hervorrufen können, sind jedoch vielfältig.

Insulinresistenz ist positiv mit dem Körpergewicht korreliert (Ludvik *et al.*, 1995). Mechanistisch ist jedoch weniger die absolute Fettmasse, als vielmehr die Fettverteilung und die Akkumulation intrazellulärer Lipidspezies entscheidend (Petersen and Shulman, 2006). In Hepatozyten (Lyu *et al.*, 2020), Myozyten (Gaspar *et al.*, 2023) und Adipozyten (Lyu *et al.*, 2021) konnte gezeigt werden, dass Insulinresistenz durch erhöhte Konzentrationen von sn-1,2-Diacylglycerol in der Zellmembran hervorgerufen wird, was in der Folge zu einer Aktivierung der Proteinkinase C ϵ führt, die eine inaktivierende Phosphorylierung am Insulinrezeptor (INSR T1160) katalysiert, woraufhin die intrazelluläre Signalkaskade nach Bindung von Insulin an seinen Rezeptor gestört ist (Roden and Shulman, 2019).

Phänotypisch gibt es sowohl Unterschiede als auch Gemeinsamkeiten zwischen verschiedenen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. In der Literatur herrscht allerdings Einigkeit weder i) über die Sequenz der zugrundeliegenden biochemischen Prozesse noch ii) über die Frage der Uniformi- oder Heterogenität der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2.

Ohne Frage unterschiedlich sind jedoch die Krankheitsverläufe, vor allem hinsichtlich der Güte der Glukosekontrolle durch medikamentöse und Lebensstilmaßnahmen, und die davon teils abhängige, teils unabhängige Abfolge und Häufigkeit von Komplikationen (Davidson, 2011).

Zurzeit erfolgt die Diagnose des Diabetes mellitus Typ 2 auf der Grundlage von Blutzuckermessungen (so denn keine klinischen und/oder laborchemischen Risikofaktoren für einen Diabetes mellitus Typ 1 vorliegen). Auch die Therapie erfolgt häufig auf der Grundlage der Blutzuckerwerte, wobei je nach Begleiterkrankungen die Wahl der Antidiabetika angepasst werden kann (Autoren, 2014). Eine fehlende Subklassifizierung der Erkrankung führt jedoch häufig zu einer Gleichbehandlung der Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, obgleich die Krankheitsverläufe sehr unterschiedlich ausfallen können.

Vor einigen Jahren wurde eine neue Klassifikation publiziert, in der neben der Glukoseregulation weitere wichtige Variablen, die den Krankheitsverlauf beeinflussen, berücksichtigt werden. Diese Klassifikation dient dazu, die zum Diabetes mellitus Typ 2 und zur Entstehung von Folgeerkrankungen

beitragenden pathophysiologischen Veränderungen mit dem Ziel einer besseren Vorhersage von Komplikationen aufzuschlüsseln (Ahlqvist *et al.*, 2018). Die Bestätigung der Hypothese, dass sich aus den verbesserten positiven und negativ prädiktiven Werten bezüglich spezifischer Komplikationen, die mit der neuen Klassifikation erreicht werden konnte, differenzierte Therapiealgorithmen ableiten lassen, steht hingegen noch aus (Dwibedi *et al.*, 2024).

Obwohl feststeht, dass Prädiabetes der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 ist, entwickeln nicht alle Menschen mit Prädiabetes im Laufe ihres Lebens einen Diabetes mellitus Typ 2. Andererseits entwickeln viele Menschen mit Prädiabetes Erkrankungen, die klassischerweise als Komplikationen des Diabetes mellitus Typ 2 gelten, ohne jemals ein Glukoseregulationsversagen solchen Ausmaßes zu entwickeln, dass ein Diabetes mellitus Typ 2 zu diagnostizieren wäre. Auch der Prädiabetes ist also eine sehr heterogene Entität (Wagner *et al.*, 2021).

Manche Komplikationen des Diabetes mellitus Typ 2, insbesondere die häufig vorkommende diabetische Nephropathie (Ahlqvist *et al.*, 2018), erfordern möglicherweise präventive Maßnahmen, die vor der Manifestation des Diabetes mellitus Typ 2 schon im Stadium des Prädiabetes ansetzen.

Von zentraler Bedeutung könnte eine Klassifizierung von metabolischen Subphänotypen vor Manifestation des Diabetes mellitus Typ 2 also vor allem für Präventionsarbeit sein. Gelänge es, die Detektion von Personen, die ein erhöhtes Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 oder ein erhöhtes Komplikationsrisiko haben, zu verbessern, wäre ein zielgerichteter Einsatz von Ressourcen des Gesundheitssystems möglich. Dieser Ansatz der Präzisionsprävention birgt also das Potential optimaler Effektivität bei gleichzeitiger Ressourcenschonung. Wagner und Kollegen nahmen daher in Analogie zur Subphänotypisierung des Diabetes mellitus Typ 2 mit ähnlichen Mitteln eine Neukartierung des prädiabetischen Spektrums vor (Wagner *et al.*, 2021). Die Einteilung nach Risikoclustern demaskiert deutliche pathophysiologische Unterschiede auch im Hinblick auf die Effekte einer Lebensstilintervention, wie hier gezeigt sein soll.

Homöostatische Systeme und deren Störung, die pathophysiologisch entscheidend für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 und für Komplikationen sind und daher als Variablen für die Einteilung in die im folgenden

beschriebenen Prädiabetes-Subcluster herangezogen wurden, sind Insulinsensitivität und -Sekretion, HDL-Cholesterinkonzentration, die Verteilung von ektopem und eutopem Fettgewebe, Leberfettgehalt, sowie das diese Faktoren beeinflussende genetische Risiko.

Anhand dieser Variablen wurden 6 Prädiabetes-Subcluster identifiziert. Cluster 1, 2 und 4 stellen Niedrigrisikocluster dar, wohingegen Zugehörigkeit zu Cluster 3, 5 und 6 metabolische Risikoverläufe wahrscheinlicher macht, die sich je nach Cluster in ihren spezifischen Komplikationsrisiken unterscheiden.

Cluster 3 zeichnet sich durch eine niedrige Insulinsekretion bei hoher Last an mit Betazell-Versagen assoziierten genetischen Varianten aus. Angehörige dieses Clusters haben ein erhöhtes Risiko, in der Zukunft an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken. Zudem ist hier das Risiko der Entwicklung einer diabetischen Nephropathie im Vergleich mit den Niedrigrisikoclustern erhöht. Auch die Intima-Media-Dicke der arteria carotis interna in Cluster 3 war signifikant höher als in Niedrigrisikoclustern.

Cluster 5 zeichnet sich durch eine ausgeprägte Insulinresistenz, hohen Leberfettgehalt und große viszerale ektote Fettdepots aus. Damit einher geht ein hohes Risiko, in der Zukunft an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken. Auch das Risiko einer diabetischen Nephropathie ist in Cluster 5 erhöht. Kardiovaskuläre Erkrankungen waren in diesem Cluster häufiger als in anderen Clustern. Die Gesamtsterblichkeit ist in Cluster 5 am höchsten.

Cluster 6 ist gekennzeichnet durch eine hohe Insulinsekretion bei auffällig niedriger Last an die Insulinsekretion einschränkenden genetischen Varianten und weniger stark ausgeprägter Insulinresistenz als Cluster 5. Obwohl Patienten in Cluster 6 kein stark erhöhtes Risiko haben, in der Zukunft einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln, war in Individuen, die diesem Cluster zugeordnet werden, signifikant häufiger eine diabetische Nephropathie zu beobachten. Die Gesamtsterblichkeit ist in diesem Cluster trotz niedrigem Risiko der Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 ähnlich hoch wie in Cluster 5 (Wagner *et al.*, 2021).

1.4 Effekte der Lebensstilintervention

Die beiden pathognomonischen Defekten des Diabetes mellitus Typ 2 sind Insulinresistenz und eingeschränkte Insulinsekretion. Aus verschiedenen Interventionsstudien in verschiedenen ethnischen Gruppen ist bekannt, dass die

Insulinsensitivität durch eine Lebensstilintervention gesteigert werden kann (Tuomilehto *et al.*, 2001; Ramachandran *et al.*, 2006; Fritsche, *et al.*, 2021).

Für den Fall eines manifesten Diabetes mellitus Typ 2 konnten Roy Taylor und Kollegen im DIRECT-Trial kürzlich zeigen, das mittels ausgeprägten Gewichtsverlustes kurz nach Diagnose eines Diabetes mellitus Typ 2 die pathophysiologischen Vorgänge, die zur Manifestation des Diabetes mellitus Typ 2 geführt haben, rückgängig gemacht und in der Folge eine Remission des Diabetes mellitus Typ 2 erreicht werden kann (Lean *et al.*, 2018; Taylor *et al.*, 2018). Mechanistisch war hierbei die Kapazität der Probanden entscheidend, im Angesicht von reduziertem Leberfett- sowie Pankreasfettgehalt ihre Insulinsekretion normalisieren zu können. Die Remission des Diabetes mellitus Typ 2 war dabei durch eine Reduktion des hepatischen VLDL-1 Triglycerid-Exports, sowie in der Folge verbesserter Insulinsekretion getrieben (Al-Mrabeh *et al.*, 2020).

Die Demonstration einer Verbesserung der Insulinsekretion im Stadium des Prädiabetes durch Lebensstilintervention steht noch aus (Fritsche *et al.*, 2021).

Aus Daten des DPP und der angeschlossenen Beobachtungsstudie DPPOS ist bekannt, dass selbst eine einmalige Rückkehr zur normalen Glukoseregulation während einer Lebensstilintervention das Risiko, an einem Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken, maßgeblich senkt (Perreault *et al.*, 2009, 2012, 2019).

Ob die Mechanismen dieser Rückkehr zur normalen Glukoseregulation denen des Typ 2 Diabetes gleichen, ist nicht bekannt.

1.5 Die Prädiabetes Lebensstil-Interventionsstudie (PLIS)

Die Prädiabetes Lebensstil-Interventionsstudie (PLIS) ist eine multizentrische, randomisierte, kontrollierte, risikostratifizierte Interventionsstudie, in der 1160 Individuen mit Prädiabetes durch das Deutsche Zentrum für Diabetesforschung (DZD) deutschlandweit eingeschlossen, risikostratifiziert und mit einer Lebensstilintervention therapiert wurden (Fritsche *et al.*, 2021). Auf Basis der Risikostratifikation in Hoch- oder Niedrigrisiko-Patienten anhand von Insulinresistenz und Leberfettgehalt erfolgte die Randomisierung von Hochrisikopatienten in eine Standard-Interventionsgruppe, die eine DPP-basierte Lebensstilintervention erhielt, oder eine intensiviertere Interventionsgruppe, die

eine ähnliche Interventionen, jedoch mit ambitionierteren Ernährungs- und Bewegungs-Vorgaben sowie erhöhter Beratungsfrequenz erhielt. Die Niedrigrisiko-Patienten erhielten entweder eine DPP-basierte Lebensstilintervention oder eine Kontrollintervention, zu der eine einmalige Beratung zur Führung eines gesunden Lebensstils gehörte. Zu Studienbeginn, während der Intervention sowie nach Ende der Intervention wurde eine tiefgreifende metabolische Phänotypisierung mittels oGTT zur Untersuchung der Glukoseregulation, Ganzkörper-Magnetresonanztomographie (MRT) zur Erfassung der Körperfettverteilung, ¹H Magnetresonanz-Spektroskopie (¹H MRS) zur Erfassung des Leberfettgehalts, ausführliche biochemische Untersuchungen inklusive der Messung einer Reihe inflammatorischer Marker so wie eine spiroergometrische Untersuchung zur Erfassung der maximalen aerobischen Kapazität vorgenommen. Nach Ende der Lebensstilintervention wurden jährliche Verlaufsuntersuchungen durchgeführt, die weiterhin andauern. Zum aktuellen Zeitpunkt (2025) erfolgen die Messungen zum 10-Jahres-*follow-up*. In der Zeit dieser Promotionsarbeit war und bin ich als Studienarzt aktiv in die Rekrutierung und Phänotypisierung der Studienteilnehmer am leitenden Studienzentrum von PLIS in Tübingen eingebunden.

In der Auswertung des primären Studienendpunkts konnte gezeigt werden, dass Hochrisikopatienten von einer intensivierten Lebensstilintervention bezüglich einer Verbesserung der Glukoseregulation, insbesondere einer Senkung des 2-Stunden-Glukosewertes im oGTT, mehr profitieren als von einer standardisierten Lebensstilintervention nach dem Vorbild des DPP (Fritsche *et al.*, 2021). Ein präspezifizierter, sekundärer Endpunkt von PLIS ist die Identifikation von Individuen, die entweder ein gutes Ansprechen oder Nicht-Ansprechen auf eine Lebensstilintervention zeigen, und deren metabolische Charakterisierung.

In DPP wurden in 23 Studienzentren in den USA Menschen mit Prädiabetes eingeschlossen, randomisiert und erhielten entweder Placebo, 850 mg Metformin zweimal täglich, oder eine Lebensstilintervention mit dem Ziel, das initiale Körpergewicht um mindestens 7% zu reduzieren, sowie die körperliche Aktivität auf mindestens 150 Minuten pro Woche zu erhöhen (Knowler *et al.*, 2002). Es zeigte sich eine gute Wirksamkeit dieser Lebensstilintervention zur Verhinderung von Diabetes mellitus Typ 2. Diese Kohorte wird in meiner Arbeit als

Replikationskohorte herangezogen und im Publikationsmanuskript sowie DPP-spezifischer Literaturangaben im Detail beschrieben.

Unsere Hypothesen (1. Paper), dass

- 1) **die Verbesserung der Insulinsensitivität, die zur Prädiabetes-Remission führt, mit einer Reduktion der ektopen Lipiddeposition (Leber- und viszerales Fett) vergesellschaftet ist** und dass
- 2) **eine solche Remission in der Folge das Risiko des Auftretens eines Diabetes mellitus Typ 2 reduziert,**

untersuchten wir in einer Subgruppe der Probanden in PLIS, die mindestens 5% ihres Ausgangsgewichts reduzieren konnten. Es wurde hierbei eine Gewichtsreduktion von 5% gewählt, da dies als klinisch relevant eingeschätzt wird und einer der im Vorfeld festgelegten Therapieziele war (Fritsche *et al.*, 2021). Die gleichen Untersuchungen führten wir zu Verifikationszwecken im Placebo- und Lebensstilinterventionsarm von DPP durch.

Ob sich die Auswirkungen einer Lebensstilintervention Clusterspezifisch zeigen, ist bislang nicht bekannt. Unsere Hypothese (2. Paper), dass

Sich die Lebensstilintervention positiv auf die Insulinsekretion auswirkt, besonders in insulindefizienten Clustern

untersuchten wir in der Kohorte der PLIS-Probanden, nachdem wir post-hoc eine Clusterzuordnung vornahmen.

2 Methoden und Resultate

2.1 Mechanisms of weight loss-induced remission in people with prediabetes: a post-hoc analysis of the randomised, controlled, multicentre Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS)

Lancet Diabetes Endocrinol 2023; 11: 798–810

Published Online September 25, 2023

[https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(23\)00235-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(23)00235-8)

Arvid Sandforth*, Reiner Jumpertz von Schwartzberg*, Elsa Vazquez Arreola, Robert L Hanson, Gencer Sancar, Sarah Katzenstein, Karl Lange, Hubert Preißl, Simon I Dreher, Cora Weigert, Robert Wagner, Kostantinos Kantartzis, Jürgen Machann, Fritz Schick, Rainer Lehmann, Andreas Peter, Nikoletta Katsouli, Vasilis Ntziachristos, Corinna Dannecker, Louise Fritsche, Nikolaos Perakakis, Martin Heni, Peter Paul Nawroth, Stefan Kopf, Andreas F H Pfeiffer, Stefan Kabisch, Michael Stumvoll, Peter E H Schwarz, Hans Hauner, Andreas Lechner, Jochen Seissler, Iryna Yurchenko, Andrea Icks, Michele Solimena, Hans-Ulrich Häring, Julia Szendroedi, Annette Schürmann, Martin Hrabé de Angelis, Matthias Blüher, Michael Roden, Stefan R Bornstein, Norbert Stefan, Andreas Fritsche†, Andreas L Birkenfeld†

*contributed equally

†contributed equally

2.1.1 Abstract

Remission of type 2 diabetes can occur as a result of weight loss and is characterised by liver fat and pancreas fat reduction and recovered insulin secretion. In this analysis, we aimed to investigate the mechanisms of weight loss-induced remission in people with prediabetes.

In this prespecified post-hoc analysis, weight loss-induced resolution of prediabetes in the randomised, controlled, multicentre Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS) was assessed, and the results were validated against participants from the Diabetes Prevention Program (DPP) study. For PLIS, between March 1, 2012, and Aug 31, 2016, participants were recruited from eight

clinical study centres (including seven university hospitals) in Germany and randomly assigned to receive either a control intervention, a standard lifestyle intervention (ie, DPP-based intervention), or an intensified lifestyle intervention for 12 months. For DPP, participants were recruited from 23 clinical study centres in the USA between July 31, 1996, and May 18, 1999, and randomly assigned to receive either a standard lifestyle intervention, metformin, or placebo. In both PLIS and DPP, only participants who were randomly assigned to receive lifestyle intervention or placebo and who lost at least 5% of their bodyweight were included in this analysis. Responders were defined as people who returned to normal fasting plasma glucose (FPG; <5.6 mmol/L), normal glucose tolerance (<7.8 mmol/L), and HbA1c less than 39 mmol/mol after 12 months of lifestyle intervention or placebo or control intervention. Non-responders were defined as people who had FPG, 2 h glucose, or HbA1c more than these thresholds. The main outcomes for this analysis were insulin sensitivity, insulin secretion, visceral adipose tissue (VAT), and intrahepatic lipid content (IHL) and were evaluated via linear mixed models.

Of 1160 participants recruited to PLIS, 298 (25.7%) had weight loss of 5% or more of their bodyweight at baseline. 128 (43%) of 298 participants were responders and 170 (57%) were non-responders. Responders were younger than non-responders (mean age 55.6 years [SD 9.9] vs 60.4 years [8.6]; $p < 0.0001$). The DPP validation cohort included 683 participants who lost at least 5% of their bodyweight at baseline. Of these, 132 (19%) were responders and 551 (81%) were non-responders. In PLIS, BMI reduction was similar between responders and non-responders (responders mean at baseline 32.4 kg/m² [SD 5.6] to mean at 12 months 29.0 kg/m² [4.9] vs non-responders 32.1 kg/m² [5.9] to 29.2 kg/m² [5.4]; $p = 0.86$). However, whole-body insulin sensitivity increased more in responders than in non-responders (mean at baseline 291 mL/[min × m²], SD 60 to mean at 12 months 378 mL/[min × m²], 56 vs 278 mL/[min × m²], 62, to 323 mL/[min × m²], 66; $p < 0.0001$), whereas insulin secretion did not differ within groups over time or between groups (responders mean at baseline 175 pmol/mmol [SD 64] to mean at 12 months 163.7 pmol/mmol [60.6] vs non-responders 158.0 pmol/mmol [55.6] to 154.1 pmol/mmol [56.2]; $p = 0.46$). IHL decreased in both groups, without a difference between groups (responders mean at baseline 10.1% [SD 8.7] to mean at 12 months 3.5% [3.9] vs non-

responders 10·3% [8·1] to 4·2% [4·2]; $p=0·34$); however, VAT decreased more in responders than in non-responders (mean at baseline 6·2 L [SD 2·9] to mean at 12 months 4·1 L [2·3] vs 5·7 L [2·3] to 4·5 L [2·2]; $p=0·0003$). Responders had a 73% lower risk of developing type 2 diabetes than non-responders in the 2 years after the intervention ended.

By contrast to remission of type 2 diabetes, resolution of prediabetes was characterised by an improvement in insulin sensitivity and reduced VAT. Because return to normal glucose regulation (NGR) prevents development of type 2 diabetes, we propose the concept of remission of prediabetes in analogy to type 2 diabetes. We suggest that remission of prediabetes should be the primary therapeutic aim in individuals with prediabetes.

2.1.2 Funding

German Federal Ministry for Education and Research via the German Center for Diabetes Research; the Ministry of Science, Research and the Arts Baden-Württemberg; the Helmholtz Association and Helmholtz Munich; the Cluster of Excellence Controlling Microbes to Fight Infections; and the German Research Foundation.

2.1.3 Research in context

We searched PubMed for articles published from database inception to Feb 14, 2023. We used the search terms “prediabetes” AND “remission” AND “intervention” without language restrictions. Previous research has shown that remission via weight-loss intervention is possible in people with type 2 diabetes and is dependent on a preserved capacity to increase insulin secretion in the context of reduced hepatic and pancreatic fat content. In people with prediabetes, data from the Diabetes Prevention Program (DPP) and the DPP Outcome Study (DPPOS) showed that a return to normal glucose regulation because of a lifestyle intervention at least once within 4·6 years reduced the risk for type 2 diabetes and microvascular complications. Although predictive factors for a return to normal glucose regulation from a prediabetic state include age, glycaemia, and insulin secretion at baseline, the underlying dynamic mechanisms that lead to prediabetes resolution remain unknown.

The Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS) was the first prospective, randomised, controlled, multicentre trial to examine the in-depth physiological features of prediabetes resolving to normal glucose regulation. Our analysis showed that prediabetes resolution depends on a capacity to improve insulin sensitivity and preferentially reduce visceral-fat volume. TNF- β (lymphotoxin- α) might be a mediator for some of these features. People who resolved prediabetes to normal glucose regulation had a 73% lower risk of developing type 2 diabetes than people who still had prediabetes, and had evidence of improved small-vessel integrity. Compared with previous lifestyle-intervention studies in people with prediabetes, which have mainly investigated the predictors of prediabetes remission, this analysis provides detailed mechanistic insights into the prediabetes-remission process by directly comparing individuals who went into remission with those who did not. We propose the concept of remission for prediabetes and highlight that remission mechanisms of prediabetes differ substantially from those of remission of type 2 diabetes. Implications of all the available evidence Because of the benefits of remission of prediabetes, the therapeutic aim in prediabetes should become remission, expressed by returning to normal glucose regulation. In clinical practice, lifestyle interventions should be applied at least until remission of prediabetes is reached. Future research should target mechanisms that differentiate between remission maintenance and relapse in people with prediabetes.

2.1.4 Introduction

The prevalence of type 2 diabetes and of prediabetes have been increasing worldwide. In the USA, 14.7% of adults aged 18 years or older are estimated to have diabetes and more than 38.0% are estimated to have prediabetes (CDC, 2024). In 2021, the global prevalence of impaired glucose tolerance was 9.1% (464 million people), and it is estimated to increase to 10% in 2045 (Rooney *et al.*, 2023). Prediabetes occurs when fasting plasma glucose is 5.6 mmol/L or more, 2 h glucose during an oral glucose tolerance test (oGTT) is 7.8 mmol/L or more, or when HbA1c is 5.7% (39 mmol/mol) or more but does not meet the glycaemic criteria for type 2 diabetes (ElSayed *et al.*, 2023). Prediabetes is the strongest risk factor for the development of type 2 diabetes, with a lifetime risk of 74.0% (Ligthart *et al.*, 2016). People with prediabetes have increased risks of

diseases other than diabetes, particularly cancer, microvascular disease, and cardiovascular disease (Tabák *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2014). In the Diabetes Prevention Program Outcome Study (DPPOS), Perreault and colleagues (Perreault *et al.*, 2012, 2019) showed that the reversal of prediabetes to normal glucose regulation (NGR) during a lifestyle intervention was associated with reduced incidences of future diabetes and microvascular complications, suggesting that restoring NGR is effective in preventing type 2 diabetes and associated complications in people with prediabetes. However, a detailed pathophysiological characterisation of this transition has not yet been established. Prediabetes is a heterogenous condition that is driven by a combination of, or single contributions from, impaired insulin secretion, insulin resistance, and unfavourable body-fat distribution, and is associated with non-infectious, low-grade inflammation (Kantartzis *et al.*, 2010; Stefan *et al.*, 2016). To understand the mechanisms driving the reversal of prediabetes, all these aspects need to be considered. In 2021, we reported results from the Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS; NCT01947595, (Fritsche *et al.*, 2021) The purpose of this prospective, randomised, controlled, multicentre intervention study of 1105 people was to assess whether an intensified lifestyle intervention was superior to a Diabetes Prevention Program (DPP)-based lifestyle intervention in improving glucose tolerance in people who were at high risk of progression to type 2 diabetes. The interventions in PLIS aimed to induce weight loss of 5% or more of participants' bodyweight at baseline, as this amount has been shown to induce clinically meaningful metabolic benefits, be reached by a broad range of people, and maintainable without meal replacements or medication (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2023). Participants were deeply phenotyped before, during, and after 12 months of either intensified lifestyle intervention, DPP-based lifestyle intervention, or control intervention (Fritsche *et al.*, 2021). Previous data on the natural history of type 2 diabetes have shown that insulin sensitivity continuously deteriorates during the progression from NGR to prediabetes to type 2 diabetes. β -cell function substantially declines during the progression from prediabetes to type 2 diabetes, and insulin resistance might be a prerequisite for this impairment in β -cell function (Weyer *et al.*, 1999; Tabák *et al.*, 2012; Bergman *et al.*, 2023). Therefore, we hypothesised that remission from prediabetes to NGR was mainly established by

insulin sensitivity and that response compared with non-response to a lifestyle intervention was characterised by a greater improvement in insulin sensitivity. Due to the effectiveness of weight loss in reversing type 2 diabetes (Lean *et al.*, 2018), we did a post-hoc analysis of participants from PLIS who had weight loss of 5% or more. We substantiated our findings using participants from the DPP, a prospective, randomised study of people with prediabetes who received a lifestyle intervention or a placebo and lost 5% or more of their bodyweight (Knowler *et al.*, 2002; Fowler, 2023). On the basis of our data, we aimed to establish the concept of prediabetes remission with MRI-based body-fat distribution data, oGTT-derived markers of insulin sensitivity and secretion, future microvascular integrity, and longitudinal data on the development of type 2 diabetes and kidney function.

2.1.5 Methods

2.1.5.1 Study design and PLIS cohort

PLIS was a randomised, controlled, multicentre intervention study that assessed whether an intensified lifestyle intervention was superior to a DPP-based lifestyle intervention in improving glucose tolerance in people who were at high risk of progression to type 2 diabetes. Inclusion criteria were age between 18 and 75 years, BMI of 45 kg/m² or less, and a diagnosis of impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance. Between March 1, 2012, and Aug 31, 2016, participants were recruited from eight clinical study centres, including seven university hospitals, in Germany (appendix p 13), risk stratified, and randomly assigned to receive either a control intervention, a standard lifestyle intervention (ie, DPP-based intervention), or an intensified lifestyle intervention (if they were at high risk of developing type 2 diabetes). Participants in the standard-intervention group received eight one-to-one advice sessions during 1 year, with advice to exercise for 3 h per week. Participants in the intensified intervention group received 16 coaching sessions during 1 year, with advice to exercise for 6 h per week. Individuals with low insulin secretion or low insulin sensitivity and high intrahepatic lipid content (IHL) were defined as participants at high risk of developing type 2 diabetes; all other individuals were defined as participants at low risk of developing type 2 diabetes (appendix pp 4, 10(Stefan *et al.*, 2015;

Fritsche *et al.*, 2021). As per the protocol, intervention interruption was not permitted. oGTTs (including glucose, insulin, c-peptide, proinsulin, free fatty acids [FFA], HbA1c, and safety laboratory measurements) and urinary albumin–creatinine ratio (uACR) assessments were conducted at baseline and at 6 months, 12 months (ie, the end of intervention), 24 months, and 36 months after the start of PLIS. Sex data were self-reported; the options provided for sex were male or female. For this post-hoc analysis, participants from PLIS who lost 5% or more of their baseline bodyweight during the 12 months of either intensified lifestyle intervention, DPP-based lifestyle intervention, or control intervention were included. Prediabetes was defined according to criteria from the American Diabetes Association (ADA),(EISayed *et al.*, 2023)). Participants were classified as either responders or non-responders. Responders were defined as people who returned to normal fasting plasma glucose (FPG; ie, <5.6 mmol/L), normal glucose tolerance (ie, 2-h post-load glucose <7.8 mmol/L; hereafter referred to as 2-h glucose), and HbA1c less than 39 mmol/mol after 12 months of all three interventions (EISayed *et al.*, 2023). Non-responders were defined as people who had FPG, 2-h glucose, or HbA1c more than these thresholds after 12 months of all three interventions. This definition was chosen because increased HbA1c, impaired fasting glucose, or impaired glucose tolerance (IGT) all represent an increased risk for developing type 2 diabetes, complications, or mortality (de Vegt *et al.*, 2000; Rasmussen *et al.*, 2008; Lean *et al.*, 2018; Wagner *et al.*, 2021; Schlesinger *et al.*, 2022). The PLIS study and this post-hoc analysis was approved by the ethics committee at the Eberhard-Karls University of Tübingen (Tübingen, Germany; 55/2012). All participants provided written informed consent for PLIS and this analysis, including all required elements (Shah *et al.*, 2024). The protocol of PLIS is available online, in German at

https://www.dzd-ev.de/fileadmin/DZD/PDF/Papers/Forschung_KlinStud_Ethik_Studienprotokoll_PLIS_1.4.pdf

2.1.5.2 DPP study validation cohort

We validated the findings from PLIS using repository data from the US DPP study.^{16,17} Between July 31, 1996, and May 18, 1999, participants were recruited from 23 clinical study centres in the USA. Sex data in DPP were collected by self-report; the options provided for sex were male or female. DPP participants were randomly assigned to receive either an intensive lifestyle

intervention, metformin, or placebo. We used data from participants included in the DPP repository who were randomly assigned to receive either standard lifestyle intervention or placebo. We did not include participants from the metformin group as we aimed to elucidate mechanisms of weight loss-induced prediabetes remission, not metformin-induced prediabetes remission. To be included from either group, participants had to have lost 5% or more of their baseline bodyweight during the 12-month follow-up and had to have complete data on measurements of BMI; fasting and 30-min insulin; and fasting, 30-min, and 2-h glucose. Written informed consent was obtained from all DPP participants and ethics approval for the study was provided by the Institutional Review Board of each clinical centre (appendix p 12). The DPP protocol is available online at <https://repository.niddk.nih.gov/media/studies/dpp/Protocol.pdf>.

2.1.5.3 Outcomes

In this post-hoc analysis of the PLIS cohort, the main outcomes were insulin sensitivity, insulin secretion, VAT, and IHL to investigate the underlying mechanisms of weight loss-induced prediabetes remission, assessed in all PLIS and DPP participants included in this analysis. During PLIS, glucose regulation was assessed at baseline, 6 months, and 12 months via oGTT. A detailed description of the protocol and sample processing has been published previously (Fritsche *et al.*, 2021). Insulin sensitivity was estimated with the Oral Glucose Insulin Sensitivity (OGIS) index (Matthews *et al.*, 1985; Mari *et al.*, 2001; Fritsche *et al.*, 2021), the Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR), and the Insulin Sensitivity Index (ISI, (Matsuda and DeFronzo, 1999). Adipose-tissue insulin resistance was estimated with the Adipose Tissue Insulin Resistance Index, calculated with $\text{insulin } (\mu\text{U/L}) \times \log(\text{free fatty acids [mmol/L]})$ (Gastaldelli *et al.*, 2009), Muscle insulin sensitivity was calculated with the tool provided by O'Donovan and colleagues (O'Donovan *et al.*, 2019). Hepatic insulin sensitivity was calculated using the OGTT-derived index $\text{glucose}_{0-30}(\text{area under the curve [AUC]}) \times \text{insulin}_{0-30}(\text{AUC})$, which correlates with direct measurements of hepatic insulin sensitivity during an euglycaemic–hyperinsulinaemic clamp and was first described by Abdul-Ghani and colleagues (Abdul-Ghani *et al.*, 2007). As an estimate of insulin secretion, we calculated c-peptide divided by glucose AUC during the first 30 min of the oGTT (hereafter referred to as AUCc-pep0–30

divided by AUCgluc0–30) as this c-peptide-based index is not affected by hepatic-insulin clearance (Tura, Kautzky-Willer and Pacini, 2006). As an integrated measure of β -cell function considering changes in insulin concentration in response to glucose concentration in the context of insulin sensitivity, the Adaptation Index was calculated via $(\text{AUCc-pep0–30} \text{ divided by } \text{AUCgluc0–30}) \times \text{OGIS}$ (Ahrén *et al.*, 2005). We calculated hepatic-insulin clearance via $\text{AUCc-pep0–120} \text{ divided by } \text{AUCins0–120}$ (FABER *et al.*, 1981). To define a threshold of waist-circumference reduction that was likely to lead to return to NGR, we assessed Youden's Indexes for female and male participants separately. We assessed whether return to NGR prevented the development of type 2 diabetes, as defined by ADA criteria, 2 years after the intervention was finished. Glucose regulation in DPP was measured via oGTT, similar to PLIS. This was done at baseline, after 1 year, and at all other annual visits. After 6 months and at any other mid-year visit, glucose regulation in DPP was measured via fasting plasma glucose.

MRI was used to assess visceral adipose tissue (VAT) compartments in PLIS. A detailed description of the applied methods has been published previously (Fritsche *et al.*, 2021). In DPP, VAT was measured via lumbar spine CT scans at L2, L3, L4, and L5. For the quantification of IHL content in PLIS, localized proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) was conducted, applying a single-voxel, stimulated echo, acquisition mode localisation technique with short echo time in the posterior part of segment VII (Machann *et al.*, 2006). Spectra were acquired in expiration to minimise breathing effects. Water and lipid signal intensity (ie, methylene and methyl signals) were integrated and the ratio of lipid to water signal intensity was calculated. IHL was not assessed in DPP. For the assessment of fat fraction in back muscles (ie, musculus erector spinae and musculus spinalis thoracis) in PLIS, fat-selective MRI was conducted (Machann *et al.*, 2006). Fat fraction was quantified by manually drawing a region of interest in the mentioned muscles in a single axial slice located at the level of the intervertebral disk between thoracic vertebrae 10 and 11. Macroscopic fatty septa were carefully excluded. Fat fraction was calculated considering nearby subcutaneous adipose tissue as a reference (ie, 100%). For follow-up examinations, identical slice position was selected. Fat fraction in back muscles was not assessed in DPP. Biomarkers of inflammation were analysed in serum

samples via multianalyte profiling that was done on the Luminex-100 system (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA), which used a combination of Bio-Plex Pro Human Immunotherapy Panel 20-Plex, Bio-Plex Pro Human Inflammation Panel, Bio-Plex Pro Human Cytokine Panel, and the 2-Plex Panel for vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM1) and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1), which are downstream molecules. BioPlex Multiplex Immunoassays (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) use xMAP Technology that is licensed from Luminex (Austin, TX, USA); these assays assessed biomarkers of inflammation. All analyses were conducted according to manufacturer protocols. A detailed description of the applied methods has been published previously (Liu *et al.*, 2005). These measurements were only done in PLIS; they were not done in DPP. To assess long-term microvasculature integrity, we used raster scan optoacoustic mesoscopy (RSOM), a novel technological approach, to assess epidermal small-vessel morphology in participants (Aguirre *et al.*, 2017). These measurements were only done in PLIS; they were not done in DPP.

2.1.5.4 Statistical analysis

Longitudinal data were analysed with linear mixed models (appendix p 9). The main outcomes (ie, insulin sensitivity, insulin secretion, VAT, and IHL) were evaluated in models with BMI, age, sex, risk stratification, and intervention intensity as fixed effects, and in the case of insulin secretion additionally with insulin sensitivity as a fixed effect; with each individual as random effect; with normal distribution assumed; and with group (ie, responders and non-responders), timepoint, and the interaction between the two as model terms (appendix p 6). Group-wise, cross-sectional comparisons of inflammatory parameters were analysed with Wilcoxon rank-sum tests and were FDR-corrected for multiplicity via the Benjamini-Hochberg procedure. Differences in incidence of type 2 diabetes during the 3-year period after PLIS initiation were assessed with Fisher's exact test. All p values were false discovery rate (FDR)-corrected via the Benjamini-Hochberg procedure. Correlation between VAT and IHL change was calculated with Pearson's correlation coefficient. Statistical analyses were done in R version 4.0.4; missing values were imputed with the mice package in R version 4.0.4 (Van Buuren and Oudshoorn, 2000). In the PLIS dataset, missing values for liver and visceral fat were imputed; no data were

imputed in the DPP validation cohort as this was the validation cohort. Risk–ratio analysis was implemented with the epitools package in R version 4.0.4. Wilcoxon rank-sum tests were used for comparisons of continuous variables and χ^2 tests for comparisons of categorical variables between responders and non-responders.

2.1.5.5 Role of the funding source

The funder of this analysis had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation, or writing of the report.

2.1.6 Results

Of 1160 participants recruited to PLIS, 298 (25.7%) had weight loss of 5% or more of their bodyweight at baseline during the 12 months of either intensified lifestyle intervention, DPP-based lifestyle intervention, or control intervention. Of these 298, 128 (43%) participants returned to NGR (i.e., were responders) and 170 (57%) participants stayed in the prediabetic condition (i.e., were non-responders; appendix p 4). Responders were younger than non-responders (non-responders median age 61.9 years [IQR 11.0] vs responders 55.4 years [13.3]; $p < 0.0001$). 87 (51%) of 170 non-responders were female and 83 (49%) were male; 69 (54%) of 128 responders were female and 59 (46%) were male ($p = 0.73$; table). The distribution of lifestyle interventions was not different between responders and non-responders (appendix p 5). In the DPP cohort, 683 (92%) of 745 participants had complete data at baseline and at 12 months on measurements of BMI, fasting 30-min insulin, and fasting 30-min and 120-min glucose during an oGTT. 568 (83%) of 683 were randomly assigned to the

	Non-responders (n=170)	Responders (n=128)	p value
Age, years	61.9 (11.0); 60.4 (8.64)	55.4 (13.3); 55.6 (9.91)	<0.0001
Sex			
Female	87 (51%)	69 (54%)	0.73
Male	83 (49%)	59 (46%)	..
BMI, kg/m ²	31.0 (8.70); 32.1 (5.92)	31.6 (7.23); 32.4 (5.59)	0.55
Waist-to-hip ratio	0.940 (0.100); 0.939 (0.080)	0.935 (0.120); 0.935 (0.081)	0.55
Intrahepatic lipid content, %	8.39% (10.8); 10.3% (8.14)	7.64% (10.5); 10.1% (8.66)	0.60
Visceral adipose tissue, L	5.28 (2.65); 5.65 (2.31)	6.06 (3.63); 6.20 (2.92)	0.13
Total adipose tissue, L	30.8 (20.2); 33.9 (15.9)	30.9 (20.7); 32.1 (15.0)	0.52
Lean mass, kg	57.4 (24.5); 59.8 (16.0)	57.1 (27.8); 61.6 (17.2)	0.50
Fasting plasma glucose, mmol/L	6.11 (0.65); 6.08 (0.48)	5.72 (0.44); 5.76 (0.43)	<0.0001
2-h glucose, mmol/L	8.05 (2.28); 7.97 (1.72)	6.79 (2.55); 7.03 (1.79)	<0.0001
HbA _{1c} , mmol/mol	41.0 (4.4); 40.8 (4.0)	37.7 (4.4); 37.8 (3.3)	<0.0001
Percentage of HbA _{1c}	5.9% (0.4); 5.9% (0.4)	5.6% (0.4); 5.6 (0.3)	<0.0001
Triglycerides, mmol/L	1.50 (0.86); 1.61 (0.77)	1.39 (0.88); 1.63 (1.19)	0.22
OGIS index	275 (90); 278 (62)	284 (95); 291 (60)	0.13
HOMA-IR	5.15 (3.14); 5.89 (3.10)	4.76 (3.63); 5.78 (3.31)	0.43
Insulin Sensitivity Index	4.79 (3.68); 5.65 (3.25)	4.96 (4.12); 6.12 (3.79)	0.47
Adipose-tissue insulin resistance	127 (82); 139 (69)	128 (96); 155 (91)	0.65
Hepatic insulin resistance	776 (622); 936 (606)	784 (802); 968 (576)	0.55
AUC _{c-pep0-30} divided by AUC _{gluc0-30}	149 (70); 158 (56)	163 (77); 175 (64)	0.020
Disposition Index	566 (433); 709 (579)	765 (617); 953 (1040)	0.0002
Risk-group assignment			
High	155 (91%)	104 (81%)	0.019
Low	15 (9%)	24 (19%)	..
uACR, mg/g	8.33 (12.5); 13.8 (15.9)	7.22 (8.33); 10.6 (12.0)	0.29

Data are median (IQR); mean (SD) or n (%). AUC=area under the curve. AUC_{c-pep0-30} divided by AUC_{gluc0-30}=c-peptide divided by glucose AUC during the first 30 min of the oGTT. HOMA-IR=Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance. OGIS=Oral Glucose Insulin Sensitivity. uACR=urinary albumin-creatinine ratio.

Table: Baseline characteristics

Table 1:

Baseline characteristics

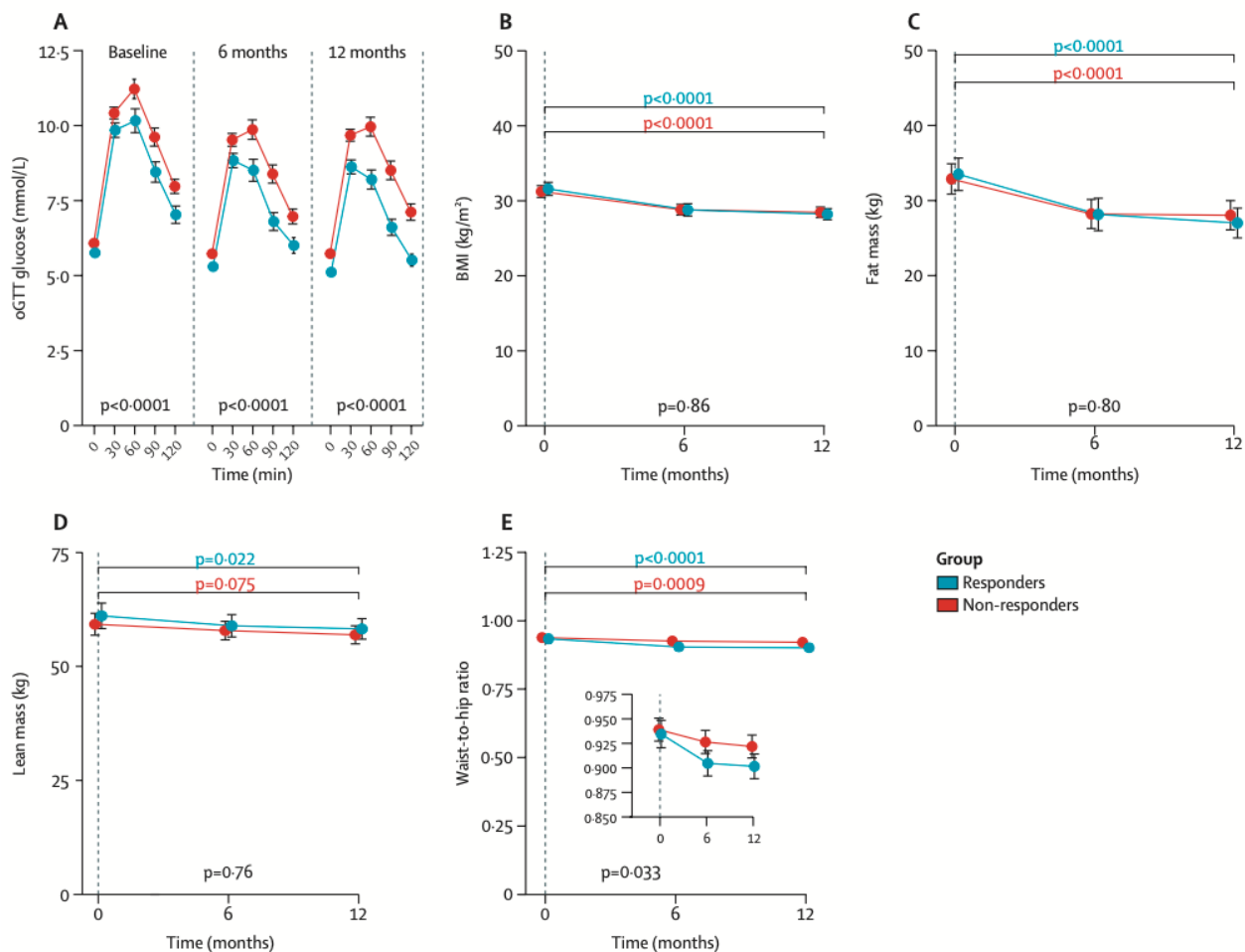


Figure 1

Glucose regulation and basic anthropometric characteristics (A) Glucose concentrations during 5-point oGTT. (B) BMI. This multivariable mixed linear model included age, sex, intervention intensity, risk stratification, group, timepoint, and the interaction between group and timepoint as main effects. (C) Bioimpedance-measured fat mass. (D) Bioimpedance-measured lean mass. (E) Waist-to-hip ratio. Raw data are shown. Error bars indicate 95% CIs. p values directly above the x axes indicate change in responders versus non-responders over time. Coloured p values indicate the difference between baseline and 12 months for the responder group (blue) and the non-responder group (red). Timepoint and BMI were also included as main effects in (A, C–E). Timepoint was also included as a main effect in (B). oGTT=oral glucose tolerance test.

lifestyle intervention group and 115 (17%) were randomly assigned to receive placebo. 132 (19%) of 683 participants who returned to NGR were compared with 551 (81%) participants who still met at least one criterion of the ADA prediabetes definition. 439 (64%) of 683 participants were female and 244 (36%) were male. 191 (28%) of 683 participants also had data on VAT based on a lumbar spine CT scan at L2 and L3 and 182 (27%) participants had these data at L4 and L5 at baseline and at 12 months. At baseline, participants were aged 25 years or older, had a BMI of 24 kg/m² or more (≥ 22 kg/m² if from Asia), and had impaired glucose

regulation (for FPG, lower boundary 5.6 mmol/L and upper boundary 6.9 mmol/L; for 2-h glucose, lower boundary 7.8 mmol/L, upper boundary 11.0 mmol/L). Glycaemic control was defined to be NGR and normal HbA1c in responders and continued to fulfil diagnostic criteria of prediabetes in non-responders. In PLIS (figure 1A), compared with non-responders, responders had lower FPG (mean 5.8 mmol/L [SD 0.4] vs 6.1 mmol/L [0.5]; $p < 0.0001$), 2-h glucose (mean 7.0 mmol/L [SD 1.8] vs 8.0 mmol/L [1.7]; $p < 0.0001$), and HbA1c (mean 38 mmol/mol [5.6%], SD 3 [0.3%] vs 41 mmol/mol [5.9%], 4 [0.4%]; $p < 0.0001$). In PLIS, mean IHL was 10.2% (SD 8.4); there was no difference between responders (10.1% [8.7]) and non-responders (10.3% [8.1]).

Glucose values during the oGTT are provided (figure 1A; appendix p 3). BMI decreased in both groups (responders mean at baseline 32.4 kg/m² [SD 5.6] to mean at 12 months 29.0 kg/m² [SD 4.9], vs non-responders 32.1 kg/m² [5.9] to 29.2 kg/m² [5.4]; figure 1B), but there were no between-group differences for BMI at any timepoint ($p = 0.86$). Whole body-fat mass was similar between responders at baseline and at 12 months (responders mean at baseline 33.52 kg [SD 12.1] to mean at 12 months 27.03 kg [SD 11.3] vs non-responders 32.90 kg [12.8] to 28.1 kg [12.5]; $p = 0.80$; figure 1C). Similarly, we did not observe between-group differences in lean mass during the 12 months (responders mean at baseline 61.6 kg [SD 17.2] to mean at 12 months 58.4 kg [SD 13.3], vs non-responders 59.8 kg [16.0] to 57.1 kg [13.2]; $p = 0.76$; figure 1D). Despite similar reductions in BMI, waist-to-hip ratio was more reduced in responders than in non-responders (responders mean at baseline 0.93 [SD 0.08] to mean at 12 months 0.90 [SD 0.07] vs non-responders 0.94 [0.08] to 0.92 [0.08]; $p = 0.033$; figure 1E). We used the Youden's Index to define waist reduction thresholds that best predict remission. These thresholds were ≥ 4.5 cm for women and ≥ 7.4 cm for men. The predefined thresholds of waist-circumference reduction predicted response in a linear multiple regressions model ($p = 0.012$). After weight loss of 5% or more of their baseline bodyweight, the odds ratio of reaching remission was 2.63 (95% CI 1.62–4.34, $p < 0.0001$) in people who reached the sex-specific, waist-reduction threshold.

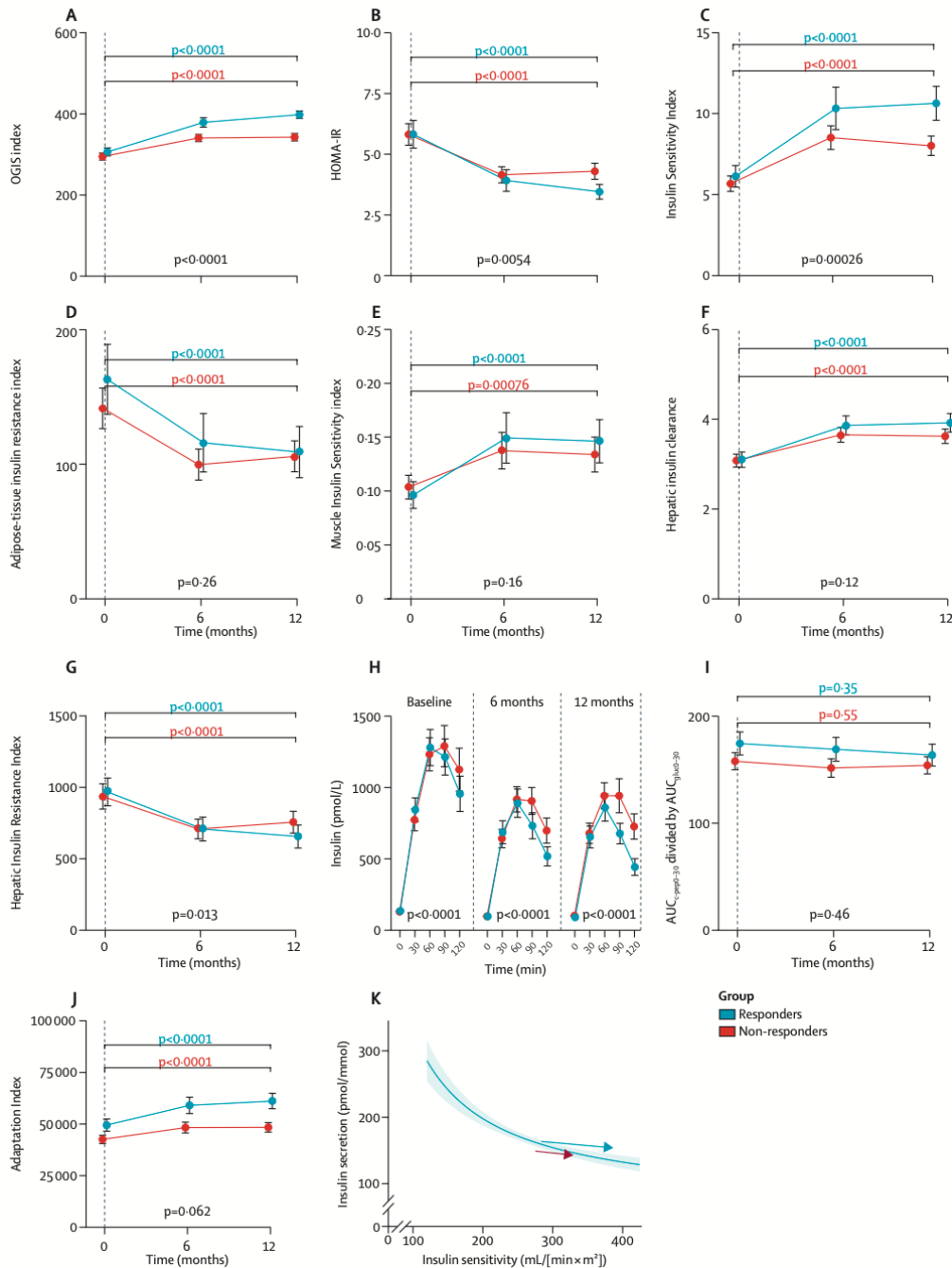


Figure 2

Indexes of insulin sensitivity and insulin secretion (A) OGIS index. (B) HOMA-IR index of insulin resistance. (C) Insulin Sensitivity Index (D) Adipose-tissue insulin resistance via the Adipose Tissue Insulin Resistance index. (E) Muscle Insulin Sensitivity Index. (F) Hepatic insulin clearance. (G) Hepatic Insulin Resistance Index. (H) Circulating insulin concentrations during oGTT. (I) AUC_{c-pep0-30} divided by AUC_{gluc0-30} as an index of glucose-stimulated insulin secretion. This model also included insulin sensitivity as a main effect. (J) Adaptation index of β -cell function. (K) Hyperbolic relationship between insulin secretion and sensitivity from baseline to 12 months. The hyperbolic relationship as the reference line was computed with all values from the weight-loss cohort at baseline. The grey error zone represents the SE of the mean. Each arrow base represents mean values at baseline and each arrow tip represents mean values at 12 months. Uncorrected mean for group and timepoint is depicted. Error bars indicate 95% CIs. p values directly above the x axes indicate change in responders versus non-responders over time. Coloured p values indicate the difference between baseline and 12 months for the responder group (blue) and the non-responder group (red). The multivariable mixed linear models in (A–E, H, J) included BMI, age, sex, intervention intensity, risk group, group, timepoint and the interaction between group and timepoint as main effects. Models in (F, G) included liver fat instead of BMI. AUC=area under the curve. AUC_{c-pep0-30} divided by AUC_{gluc0-30} =c-peptide divided by glucose AUC during the first 30 min of the oGTT. HOMA-IR=Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance. OGIS=Oral Glucose Insulin Sensitivity. oGTT=oral glucose tolerance test.

compared with those who did not reach this threshold (appendix p 14). Whole-body insulin sensitivity, as measured by OGIS, showed a larger increase in responders than in non-responders (mean at baseline 291 mL/[min × m²], SD 60, to mean at 12 months 378 mL/[min × m²], SD 56, in responders vs 278 mL/[min × m²], 62, to 323 mL/[min × m²], 66, in non-responders; $p < 0.0001$; figure 2A), with similar improvements in the HOMA-IR and ISI (figure 2B, C). Indexes of organ-specific insulin sensitivity are provided in figure 2D–G. Hepatic insulin clearance increased in both groups (responders mean at baseline 3.1 [SD 1.0] to mean at 12 months 3.9 [SD 1.2], vs non-responders 3.2 [1.0] to 3.7 [1.1]; $p = 0.12$; figure 2F). Hepatic insulin resistance index was more reduced in responders than non-responders (responders mean at baseline 968 mmol × pmol/[L × h], SD 576, to mean at 12 months 661 mmol × pmol/[L × h], SD 484 vs non-responders 936 mmol × pmol/[L × h], 606, to 736.9 mmol × pmol/[L × h], 508.3; $p = 0.013$; figure 2G). Insulin secretion adjusted for insulin sensitivity, which was measured via AUC_{c-pep0–30} divided by AUC_{gluc0–30}, did not change within groups or differ between groups (responders mean at baseline 175 pmol/mmol [SD 64] to mean at 12 months 163.7 pmol/mmol [SD 60.6] vs non-responders 158.0 pmol/mmol [55.6] to 154.1 pmol/mmol [56.2]; $p = 0.46$; figure 2I). Overall, amounts of secreted insulin during the oGTT were lower in responders than in non-responders (figure 2H). The adaptation index as an index of β-cell function increased in both groups (responders mean at baseline 49 513 [SD 17 432] to mean 12 months 61 136 [SD 21 758], vs non-responders 42 563 [14 366] to 48 401 [16 368]; $p = 0.062$; figure 2J). The hyperbolic relationship between insulin sensitivity and secretion is provided in figure 2K. Responders had more improved insulin sensitivity than non-responders and remained above the hyperbola that was modelled from the whole cohort. IHL decreased in both groups (responders mean at baseline 10.1% [SD 8.7] to mean at 12 months 3.5% [SD 3.9] vs non-responders 10.3% [8.1] to 4.2% [4.2]; figure 3A) but there were no differences between groups in the size of the decrease or at each timepoint ($p = 0.34$). Mean IHL in the PLIS cohort was 3.9% (SD 4.1) after the intervention to which they were assigned, including control intervention. This IHL is considered to be less than the threshold of hepatic steatosis (ie, 5.6%) ('EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease', 2016). VAT decreased more in responders than in non-responders (mean at baseline 6.2 L [SD 2.9] to mean at

12 months 4.1 L [SD 2.3], vs 5.7 L [2.3] to 4.5 L [2.2]; $p=0.0003$; figure 3A). Changes in IHL and VAT were associated ($r=0.21$; $p=0.0045$). Total adipose tissue decreased in both groups (figure 3A); there was no difference between responders and non-responders in muscle-fat change over time (figure 3A). Stratifying response by IHL loss, we did not observe a proportional increase in response with higher IHL loss than with lower IHL loss (figure 3B, C). However, the proportion of responders increased with more visceral fat loss and decreasing weight (figure 3D, E). Furthermore, we observed an increased likelihood of response in the higher weight loss strata.

36 (50%) of the 72 participants in the 10–15% baseline weight loss stratum from PLIS returned to NGR (figure 3F). To validate our findings, we selected the 683 (92%) of 745 participants who lost at least 5% of their bodyweight and had complete data at baseline and at 12 months in DPP (appendix p 1, (Knowler *et al.*, 2002; Fowler, 2023))

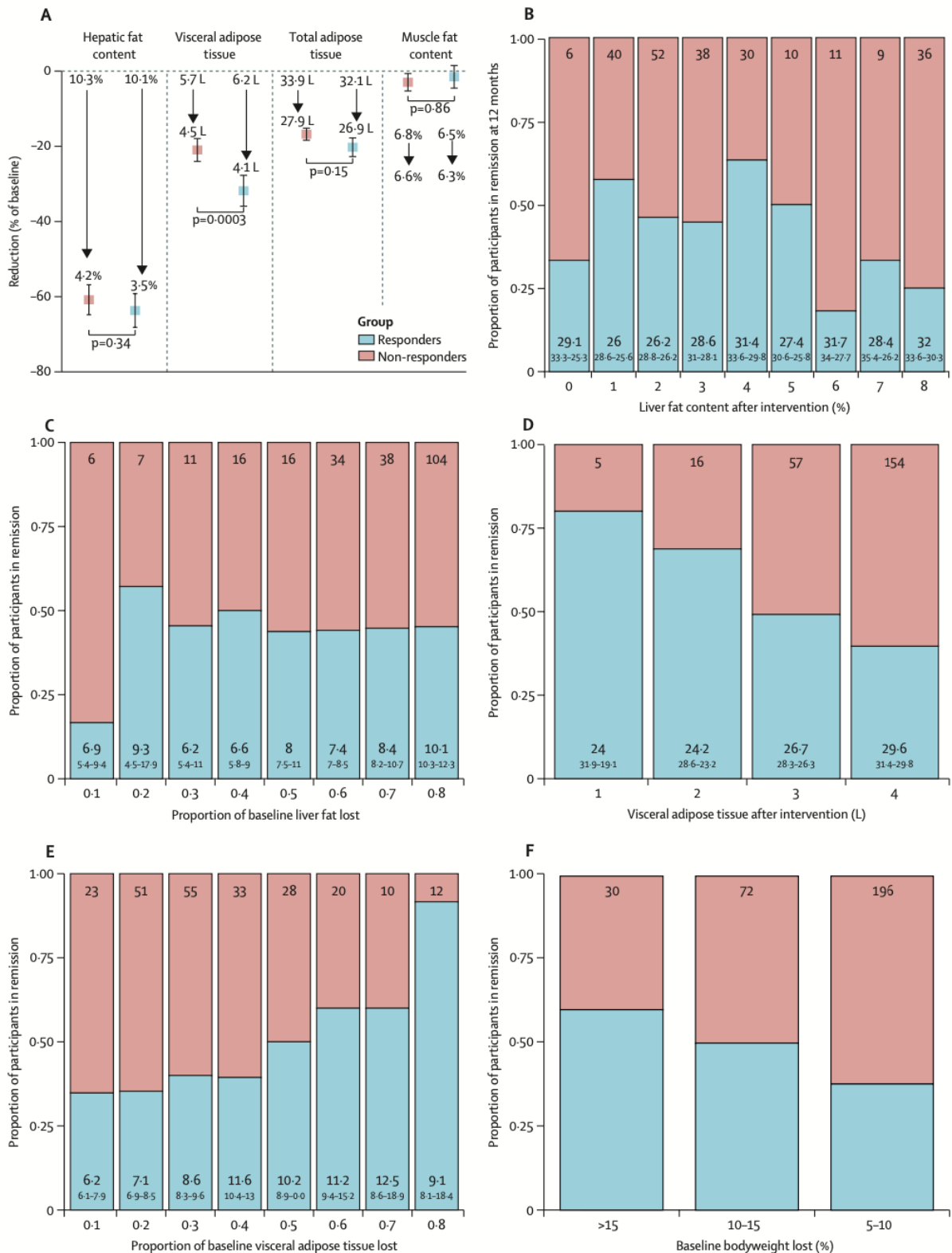


Figure 3

MRI and 1H-MRS-based assessment of body-fat distribution and stratification of response (A) Reductions in hepatic fat content, visceral adipose tissue, total adipose tissue, and muscle fat content. p values were derived from multivariable mixed linear models including BMI, age, sex, intervention intensity, risk group, group, timepoint, and the interaction between group and timepoint as main effects. Numbers above the arrows show fat content before the intervention and numbers below the arrows show fat content after the intervention. (B) Response stratified by liver fat content after intervention. (C) Proportion of baseline liver fat lost. (D) Visceral adipose tissue after intervention. (E) Proportion of baseline visceral adipose tissue lost. (F) Baseline bodyweight lost. Stacked bar plots (B–F) show the total number of participants in each stratum at the top, BMI including 95% CIs at the bottom in (B, D), and bodyweight loss in kg including 95% CIs at the bottom in (C, E). 1H-MRS=proton magnetic resonance spectroscopy.

As in PLIS, responders (n=132 [19%]) and non-responders (n=551 [81%]) had similar reductions in BMI (appendix p 7). Responders had improved insulin sensitivity compared with non-responders, but insulin secretion did not differ between groups (appendix p 7), even after adjusting for insulin sensitivity. VAT was more reduced in responders than in non-responders (appendix p 7). As VAT is associated with increased low-grade inflammation, we assessed biomarkers of inflammation in 113 individuals with available serum samples from PLIS, which have been implicated in contributing to insulin resistance and complications (appendix p 2). Compared with non-responders, responders had a larger reduction in TNF- β (lymphotoxin- α ; mean at baseline 11.6 pg/mL [SD 3.1] to mean at 12 months 8.6 pg/mL [SD 2.6] vs 10.13 pg/mL [3.13] to 8.99 pg/mL [3.09]; p=0.048), VCAM1 (mean at baseline 54 531 pg/mL [SD 8736] to mean at 12 months 49 804 pg/mL [SD 7379] vs 52 523 pg/mL [7199] to 51 861 (8106); p=0.022), and ICAM1 (mean at baseline 44 526 pg/mL [SD 8483] to mean at 12 months 35 504 pg/mL [SD 5811] vs 42 728 pg/mL [7570] to 38 751 pg/mL [6760]; p=0.014; appendix pp 2, 8). IFN γ (responders mean at baseline 3.30 pg/mL [SD 1.60] to mean at 12 months 2.06 pg/mL [SD 1.84] vs non-responders 2.87 pg/mL [1.56] to 1.98 pg/mL [1.68]; p=0.55), tumour necrosis factor (TNF)- α (responders mean at baseline 400 pg/mL [SD 47] to mean at 12 months 386 pg/mL [SD 51] vs non-responders 380 pg/mL [55] to 388 pg/mL [46]; p=0.16), and IL-6 (responders mean at baseline 1.45 pg/mL [SD 0.81] to mean at 12 months 1.14 pg/mL [SD 0.58] vs non-responders 1.48 pg/mL [0.70] to 1.50 pg/mL [0.80]; p=0.12) were not different between groups. As TNF- β (lymphotoxin- α) was reduced in responders (p=0.048; appendix pp 2, 8), and insulin sensitivity was improved and VAT mass was reduced (figure 2A–C, 3A), we assessed whether TNF- β (lymphotoxin- α) impairs insulin signalling in human adipocytes in vitro. Insulin signalling was impaired (control with insulin mean 1.04 arbitrary units [AU; SD 0.12] vs TNF- β (lymphotoxin- α) treatment with insulin 0.60 AU [0.09]; p=0.0003), adipocyte GLUT4 mRNA expression was reduced after TNF- β (lymphotoxin- α) treatment (mean without treatment 1.05 AU [SD 0.24] to mean after treatment 0.06 AU [SD 0.01]; p=0.014), and insulin-stimulated glucose uptake was impaired (control-fold change with insulin 1.70 [95% CI 1.32–2.09];

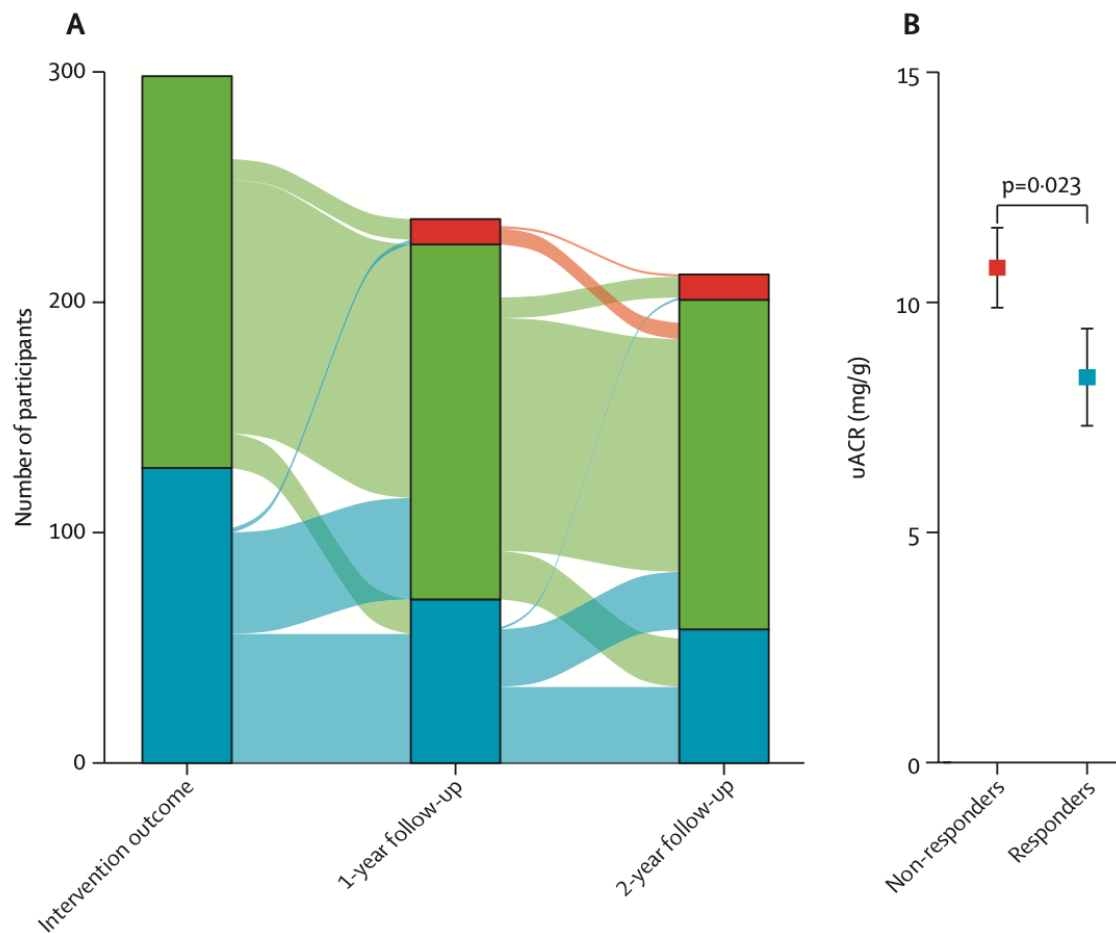


Figure 4:

Glucose-regulation trajectories and uACR at 3 years (A) Sankey plot of the change in glucose regulation until 3 years after study initiation (2 years after interventions were finished). The number of individuals from both the responder and non-responder groups in each of the three states of glycaemia is shown; the width of each flow is proportional to the quantity represented. (B) uACR at 3 years after study initiation. Point estimates of the mean and 95% CI are depicted. uACR=urinary albumin–creatinine ratio.

TNF- β (lymphotoxin- α)-treated fold change with insulin 1.07 [95% CI 0.90–1.23]; $p=0.016$; appendix p 8). As VCAM1 and ICAM1 interfere with vascular structure and function, we assessed microvasculature integrity using RSOM in 22 participants from PLIS, from which the measurements were available for a mean 4.5 years (SD 0.5) after the lifestyle intervention (Haedicke *et al.*, 2020). Data showed that junction-to-endpoint branches (mean 186.9, SD 16.2 in responders vs 154.9, 25.3 in non-responders; $p=0.0018$) and dermis-vessel density (mean 203.67, 95% CI 168.14–239.20 in responders vs 166.00, 149.94–182.06 in non-responders; $p=0.048$) were higher in responders than in non-responders (appendix p 8). We assessed whether return to NGR prevented the development of type 2 diabetes 2 years after the lifestyle intervention was finished (ie, 3 years after study initiation). Overall, the risk ratio of responders versus non-responders to progression to type 2 diabetes was 0.27 (95% CI 0.08–0.90; figure 4A). We

also assessed uACR as a validated biomarker of future nephropathy and cardiovascular disease 2 years after the lifestyle intervention was finished. uACR was within the normal range, but lower in responders than in non-responders (mean 8.4 mg/g [SD 9.1] vs 10.7 mg/g [8.8]; $p=0.023$; figure 4B).

2.1.7 Discussion

Our data show that weight loss-induced reversal of prediabetes to NGR is associated with reduced VAT mass and enhanced insulin sensitivity. Improved insulin sensitivity is a crucial factor in reducing the insulin-producing pressure on β cells and improving β -cell function (Kahn *et al.*, 1993). However, β -cell function and insulin secretion were not different between responders and non-responders. The improvement of insulin resistance in people returning to NGR is supported by data from the Indian Diabetes Prevention Program (Snehalatha *et al.*, 2009); however, the underlying mechanisms have not been reported. Our findings are independent of differences in bodyweight or previous bodyweight loss; responders and non-responders lost similar amounts of bodyweight and body fat during the lifestyle intervention. However, responders had lower FPG, 2 h glucose, and HbA1c at baseline, and were therefore closer to NGR. These baseline differences, together with similar reductions in BMI, might be sufficient for responders to return to NGR, but not non-responders. Previous trials, including the DiRECT study, have shown that substantial weight loss can induce remission of type 2 diabetes (Petersen *et al.*, 2005; Lean *et al.*, 2018). By contrast with our analysis, remission from type 2 diabetes was driven by an improvement in insulin secretion, but insulin resistance did not characterise remission in the DiRECT study (Taylor *et al.*, 2018; Al-Mrabeh *et al.*, 2020; Zhyzhneuskaya *et al.*, 2020). Therefore, in people with prediabetes, improved insulin sensitivity might affect return to NGR, whereas in people in remission of type 2 diabetes, improved β -cell secretory capacity might predominate. This idea is supported by the finding that throughout the natural history of the development of type 2 diabetes, the transition from IGT to type 2 diabetes is characterised by a substantial decline in insulin secretion (Weyer *et al.*, 1999; Tabák *et al.*, 2009; Bergman *et al.*, 2023). However, insulin sensitivity continuously declines during the transition from NGR to IGT to type 2 diabetes, and might be a prerequisite for the substantial decline in β -cell function (Weyer *et al.*, 1999; Tabák *et al.*, 2009; Bergman *et al.*, 2023).

Another reason could be that a substantial proportion of people who enter remission of type 2 diabetes remain glucose intolerant. In the DiRECT trial, whether people going from type 2 diabetes to NGR compared with people going from type 2 diabetes to prediabetes were also characterized by a difference in insulin sensitivity in addition to β -cell function would be interesting to know. In our post-hoc analysis of PLIS, $AUC_{c-pep0-30}$ divided by $AUC_{gluc0-30}$ was used to measure insulin secretion, which correlates highly with intravenous glucose tolerance tests and hyperglycaemic clamp tests, but there was no difference between groups or within groups over time (Prystupa *et al.*, 2022). An improvement in insulin secretion after lifestyle intervention has been shown for specific Tübingen Prediabetes Clusters (Wagner *et al.*, 2021, 2022), but this analysis was done with a different objective and participant sample. Our analysis refers to participants with weight loss of 5% or more of their bodyweight at baseline, who were not stratified by risk cluster assignment, and compares responders with non-responders. Mechanisms to improve insulin sensitivity include reducing ectopic body fat and possibly chronic low-grade inflammation (Fleischman *et al.*, 2008; Birkenfeld and Shulman, 2014; Roden and Shulman, 2019). In this analysis, IHL was similarly reduced by approximately 60% in both responders and non-responders. Once IHL was reduced by more than 20% in PLIS, remission rates did not increase further. By contrast, VAT decreased more in responders than in non-responders, with an increase in rates of return to NGR similar to increased VAT loss. These data show that resolution of prediabetes is characterised by improved insulin sensitivity and a larger reduction in VAT. Cardiometabolic imaging and epidemiological studies have shown that VAT is associated with metabolic and atherosclerotic risk (Van Gaal, Mertens and De Block, 2006; Fox *et al.*, 2007; Neeland *et al.*, 2013), yet its exact influence on the development of metabolic disease is not fully understood (Després and Lemieux, 2006; Tchernof and Després, 2013; Smith, 2015; Stefan, 2020). In humans, cross-sectional studies have shown that IHL, rather than VAT, is more closely associated with metabolic dysregulation when IHL is higher than the normal range (Fabbrini *et al.*, 2009; Kantartzis *et al.*, 2010; Iliodromiti *et al.*, 2023), whereas VAT might be more closely associated with metabolic dysfunction when IHL is in the low range (Kim *et al.*, 2011; Ding *et al.*, 2018). Three hypotheses have been proposed to explain metabolic complications in people with high VAT.

First, VAT is drained by the portal vein to the liver and, accordingly, visceral adipocytes secrete FFA and glycerol to the liver, increasing amounts of hepatic acetyl-CoA, hepatic glucose production, and FPG (Perry *et al.*, 2015). In our analysis, with low IHL after weight loss, increased FPG in non-responders suggested increased hepatic glucose production; the hepatic insulin resistance index was lower in responders than in non-responders. Second, VAT becomes inflamed by infiltrating macrophages that are attracted to hypertrophied adipocytes, increasing the secretion of inflammatory cytokines and reducing production of protective adipokines (Després and Lemieux, 2006; Perry *et al.*, 2015; Sethi and Hotamisligil, 2021). Although several cytokines that are implied in mediating insulin resistance (e.g., IL-6, TNF- α , and IFN γ) were not different between groups in this analysis, we observed that the TNF-receptor agonist TNF- β (lymphotoxin- α) and its downstream mediators VCAM1 and ICAM1 were more reduced in responders. We showed that TNF- β (lymphotoxin- α), a regulator of tertiary lymphoid organs, impairs insulin signalling in human adipocytes (appendix p 8); VCAM1 and ICAM1 are induced by TNF- β (lymphotoxin- α) and are associated with vascular damage (Cuff *et al.*, 1998; Blankenberg *et al.*, 2001). In DPPOS, reverting from prediabetes to NGR reduced future microvascular complications (Perreault *et al.*, 2012). Furthermore, albumin excretion and skin-vascular integrity was better in responders than in non-responders in PLIS 4.5 years (SD 0.5) after the intervention for skin vascular integrity and 2 years after the intervention finished for urinary albumin excretion. Third, VAT is a marker of increased ectopic fat (e.g., IHL). Our data showed that IHL and back muscle fat changed to similar levels in responders and non-responders, and IHL was less than the threshold for steatosis (i.e., 5.6%) in PLIS. Nevertheless, VAT remained higher in non-responders than in responders. Therefore, our data showed that, in a dynamic setting, changes in VAT do not necessarily reflect changes in IHL. Responders were younger than non-responders, and age has been previously shown to be a predictor of return to NGR (Perreault *et al.*, 2019), which highlights the importance of early detection and treatment of prediabetes. A preventive programme based on the intervention used in PLIS (as it was more effective than other, previously tested interventions)(Fritsche *et al.*, 2021) could be developed, evaluated, and subsequently implemented in routine care. This development and implementation could have important public health implications worldwide.

Economic evaluation should be part of the programme evaluation; previous health economic evaluations of methods of diabetes prevention, such as DPP, have shown that these programmes are cost-effective or even cost-saving (Herman *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2020). The same has been shown for the DiRECT programme (Xin *et al.*, 2019). However, future studies will need to address the mechanisms underlying return from prediabetes to NGR in more detail (Petersen *et al.*, 2005; Perry *et al.*, 2017; Taylor *et al.*, 2018; Al-Mrabeih *et al.*, 2020). An ADA expert group proposed that remission was the most appropriate descriptive term for reversal of type 2 diabetes, with HbA1c of less than 6.5% (48 mmol/mol) measured at least 3 months after pharmacotherapy cessation as a diagnostic criterion (Riddle *et al.*, 2021). Our data showed that remission of prediabetes to NGR decreased the risk of developing type 2 diabetes 2 years after the intervention ended, with reduced uACR and differences in microvascular integrity. Similarly, DPPOS showed that reversal of prediabetes prevented type 2 diabetes and vascular complications (Perreault *et al.*, 2012, 2019). Therefore, we propose extending the concept of remission to include the reversal of prediabetes to NGR; that remission of prediabetes is reached when HbA1c is lower than 5.7% (39 mmol/mol), fasting levels are less than 5.6 mmol/L, and 2-h glucose levels are less than 7.8 mmol/L in individuals with previous prediabetes without glucose-lowering medication. We also propose that remission of prediabetes to NGR should be a primary aim in the prevention of type 2 diabetes. Remission of prediabetes should not be confused with cure of prediabetes as not all metabolic derangements can be solved. One limitation of this post-hoc analysis was the use of surrogate parameters derived from oGTT, as no direct measurements of insulin sensitivity or secretion were available. However, we used markers that highly correlate with these measurements (Prystupa *et al.*, 2022). Moreover, a c-peptide-based index of insulin secretion was used, which is not affected by hepatic insulin clearance. Another limitation is our inability to exclude the possibility that the outcomes have been affected by unmeasured confounders, such as genetic predisposition, epigenetics, environmental factors, or other factors (e.g., gut microbiome). As both DPP and PLIS have been conducted in high-income countries (i.e., the USA and Germany), our findings might not be generalisable to low-income countries with less access to medical care. Furthermore, the majority of participants in both

studies were White, thus, our data might not be generalisable to other ethnicities. Remission of prediabetes to NGR through weight loss of 5% bodyweight or more requires substantial VAT reduction, which is paralleled by reduced TNF- β (lymphotoxin- α) and is dependent on improvements in insulin sensitivity. Our data suggest differences between remission from type 2 diabetes to non-diabetic Glucose regulation and remission of prediabetes to NGR. Because of the beneficial effect of prediabetes remission on the risk of type 2 diabetes, we propose the concept of remission of prediabetes to NGR in analogy to remission of type 2 diabetes and to consider this remission to be a primary aim of care for people with prediabetes.

2.2 Lower Hepatic Fat Is Associated With Improved Insulin Secretion in a High-Risk Prediabetes Subphenotype During Lifestyle Intervention

Diabetes 2023; 72:362–366

<https://doi.org/10.2337/db22-0441>

Robert Wagner, Martin Heni, Konstantinos Kantartzis, Arvid Sandforth, Jürgen Machann, Fritz Schick, Andreas Peter, Louise Fritsche, Julia Szendrödi, Andreas F.H. Pfeiffer, Annette Schürmann, Matthias Blüher, Hans Hauner, Jochen Seissler, Stefan Bornstein, Michael Roden, Norbert Stefan, Andreas L. Birkenfeld, Morris F. White, Hans-Ulrich Häring, and Andreas Fritsche

2.2.1 Abstract

The objective of this work was to investigate whether impaired insulin secretion can be restored by lifestyle intervention in specific subphenotypes of prediabetes. We assigned 1,045 participants from the Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS) to six recently established prediabetes clusters. Insulin secretion was assessed by a C-peptide–based index derived from oral glucose tolerance tests and modeled from three time points during a 1-year intervention. We also analyzed the change of glycemia, insulin sensitivity, and liver fat. All prediabetes high-risk clusters (cluster 3, 5, and 6) had improved glycemic traits during the lifestyle intervention, whereas insulin secretion only increased in clusters 3 and 5 ($P < 0.001$); however, high liver fat in cluster 5 was associated with a failure to

improve insulin secretion (P interaction < 0.001). Thus, interventions to reduce liver fat have the potential to improve insulin secretion in a defined subgroup of prediabetes.

2.2.2 Introduction

Prediabetes is a heterogeneous condition comprising subphenotypes with different risks of diabetes and its complications (Wagner *et al.*, 2021). From its two key features, insulin resistance and impaired insulin secretion, insulin resistance can be clearly improved by lifestyle intervention (LI); however, it is not known whether LI can improve insulin secretion in specific subphenotypes of reduced insulin secretion (Fritsche *et al.*, 2021). Recently, we described six clusters of prediabetic metabolism (Wagner *et al.*, 2021). Two of these clusters (clusters 3 and 5) have a high risk of progression to diabetes. Another group (cluster 6) has an intermediate risk of diabetes as these individuals are capable of compensating insulin resistance via hyperinsulinemia over years. In this study, we retrospectively stratified participants of a large multicenter study into these novel clusters of prediabetic metabolism and investigated whether LI improved their insulin secretion and other glycemic traits (Wagner *et al.*, 2021).

2.2.3 Methods

2.2.3.1 Study Population

The Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS) is a randomized, controlled, multicenter trial testing the efficacy of different intervention intensities in individuals with prediabetes (ClinicalTrials.gov identifier NCT01947595) (Fritsche *et al.*, 2021). Participants with prediabetes were divided into a group with a low risk or a group with a high risk for diabetes progression. The low-risk group was then randomized to a control or conventional LI, whereas the high-risk group was randomized to a conventional or intensive LI for 1 year. While the control arm had only one 30-min consultation session with a dietitian, participants in the conventional and intensified arms received 8 or 16 recurring counseling sessions, respectively. The intention of counseling was to decrease body mass by 5% through reducing fat and increasing fiber intake. Participants with the conventional and intensified intervention were also motivated to perform 3 and 6

h of exercise per week, respectively. Postprandial glucose (glucose at 120 min after a glucose challenge) was the primary end point of the study. Secondary end points were insulin sensitivity, liver fat, and insulin secretion.

2.2.3.2 Assignment to Metabolic Clusters

Participants in the intention-to-treat analysis were assigned to metabolic clusters based on several variables: area under the curve (AUC)_{0–120} glucose, insulin sensitivity, insulin secretion (ratio of AUC_{0–30}C-peptide to AUC_{0–30}glucose), HDL-cholesterol, visceral fat volume, subcutaneous fat volume, liver fat content, and type 2 diabetes polygenic risk score, as described previously (Wagner *et al.*, 2021). Insulin and C-peptide were measured using the ADVIA Centaur XP Immunoassay System. Liver fat content was assessed with ¹H MRS, as described previously (Fritsche *et al.*, 2021). Missing variables were imputed using multivariable imputation with chained equations (Buuren and Groothuis-Oudshoorn, 2011), and complete cases set for the required variables was achieved for N = 1,045 (see Supplementary Table 1).

2.2.3.3 Outcome Measures

Standardized 75-g oral glucose tolerance tests (OGTTs) were performed at baseline after 6 months and 12 months of LI. Insulin sensitivity was assessed by the Matsuda index from 5-point insulin and glucose measurements (Matsuda and DeFronzo, 1999). Results of the per-protocol analysis of the low-risk and high-risk groups of PLIS did not show an effect of LI on insulin secretion measured by an insulin-based index. We measured C-peptide as a post hoc analysis of the study to assess insulin secretion by ratio of AUC_{0–120}C-peptide to AUC_{0–120}glucose, as this index had a lower coefficient of variation while still achieving high discrimination (Hudak *et al.*, 2021).

2.2.3.4 Statistics

Computations were performed with R 3.6.1 software. The change of outcome measures during LI was modeled with generalized linear mixed models applying the participant as a random effect using the lme4 library. Fixed-effects covariates comprised the intervention group and its interaction term with time, sex, age,

BMI, and time (since randomization). Insulin sensitivity was log-transformed when analyzed as an outcome. For insulin secretion, further adjustment was performed for insulin sensitivity. To test how liver fat affects the change in insulin secretion, we fitted the interaction of time and liver fat, measured at the beginning and at the end of the trial, on insulin secretion in different prediabetes clusters. All tests were two-sided with an α level of 0.05. According to simulations performed with the *simr* package (Green and MacLeod, 2016), the statistical power to detect the change of insulin secretion in cluster 5 ($b = 10$, N groups = 213, N measurements = 594) was 76% (95% CI 66–84).

2.2.3.5 Data and Resource Availability

Data of the PLIS study are currently not publicly available. Making the data publicly available without additional consent or ethical approval might compromise participant privacy and the original ethical approval. The R code that supports this analysis is specific for the data set of the PLIS study and available upon request.

2.2.4 Results

All participants of the PLIS cohort met the criteria for prediabetes and ~82% (856 of 1,045) were assigned to the previously described high-risk clusters 3, 5, or 6. The baseline characteristics of participants stratified for metabolic clusters are summarized in Supplementary Table 2. Owing to the low number of participants assigned to the metabolically healthy obese cluster (cluster 4, $n = 8$), this group was excluded from further analyses. There were no differences in renal function across the clusters that could impact assessment of insulin secretion through reduced C-peptide clearance (Supplementary Table 2). Before the intervention, cluster 3 had the lowest insulin secretion independent from insulin sensitivity ($p < 3.69 * 10^{-6}$) (see Supplementary Table 2), and cluster 5 had the lowest insulin sensitivity compared with all other clusters (see Supplementary Table 3).

We analyzed the change in key glycemic traits during LI incorporating all evaluation points (baseline 6 months, except for liver fat, and 12 months). Glycemia, insulin sensitivity, and liver fat content were improved by LI in all three high-risk clusters (3, 5, and 6), independent from sex, age, BMI, and the type of

LI ($P < 0.001$) (see Fig. 5A–C). Insulin secretion improved independently from insulin sensitivity and the above-mentioned covariates in clusters 3 and 5. However, insulin secretion did not change during LI in participants in cluster 6, which is characterized by hyperinsulinemia, (see Fig. 5D). Unadjusted insulin secretion also did not increase or decrease during the LI ($p = 0.4$).

We tested the hypothesis that the change of liver fat content—modeled as an interaction of time and MRS-derived hepatic fat content at study start and end—modulates insulin secretion using generalized linear mixed models with the fixed-effect terms: sex, age, BMI, insulin sensitivity, intervention, time \times intervention, and time. There was a significant interaction between time and liver fat within cluster 5, but not within the other tested clusters. The results suggest that lower liver fat during LI was associated with an increase of insulin secretion, whereas higher liver fat levels inhibited this improvement of insulin secretion (Fig 5E). In contrast, with similarly constructed models, there was no interaction with BMI in any tested cluster, suggesting that BMI does not impact the change of insulin secretion in either metabolic cluster (Supplementary Fig. 1).

We also computed insulin secretion using the alternative index ratio of AUC_{0–30}C-peptide to AUC_{0–30}glucose that was used at the original cluster assignment. This index potentially involves hepatic insulin resistance and yielded similar results (Supplementary Fig. 2) (Abdul-Ghani *et al.*, 2007).

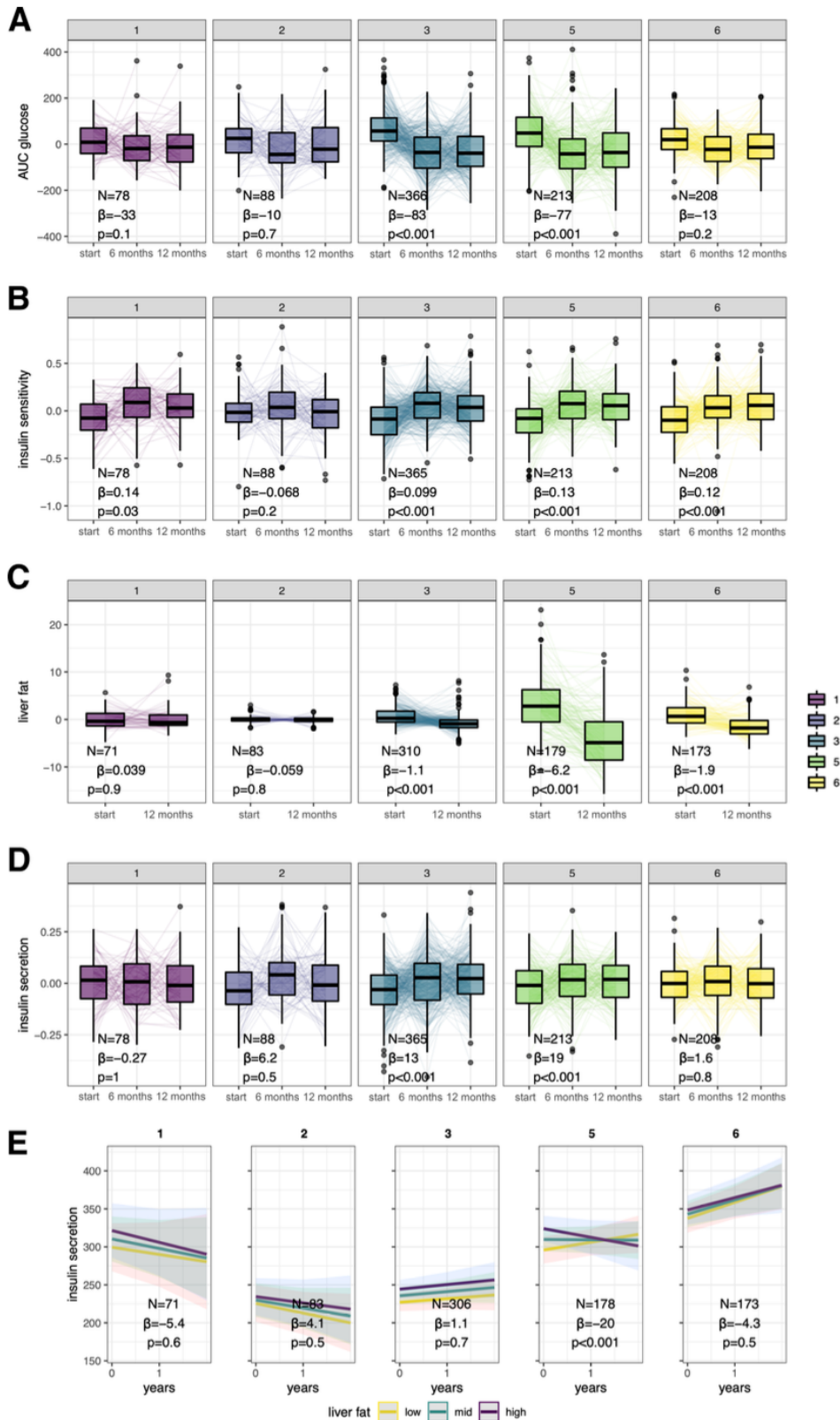


Figure 5

Cluster-wise change of glycemia (A), insulin sensitivity (B), liver fat (C), and insulin secretion (D) during LI with influence of liver fat on change of insulin secretion during LI (E). Subpanels 1–6 indicate the respective prediabetes clusters. Traits are shown as residuals from generalized linear mixed models adjusted for sex, age, BMI, time \times intervention (control, conventional, or intensive), and in the case of insulin secretion, additionally for insulin sensitivity as fixed effects. Effect sizes (b) and P values are provided for the term time. Cluster-wise interactions between hepatic fat content and time in generalized linear mixed models are shown as marginal effects by plotting the modeled change of insulin secretion for low (mean SD), mid (mean) and high (mean SD) hepatic fat content. Effect sizes (b) and P values are provided for the interaction between liver fat and time.

2.2.5 Discussion

The data show that all previously defined high-risk clusters of prediabetes are amenable for improvement of glycemia, insulin sensitivity, and liver fat content through LI; however, insulin secretion only improves in clusters 3 and 5. These two clusters are characterized by low insulin secretion for their respective insulin sensitivity. Of note, cluster 3, with only moderate insulin resistance and insulinopenia, also improves insulin secretion. Insulin secretion did not increase in cluster 6 during LI, which aligns with the observation that individuals in this cluster already have prominent hyperinsulinemia. The lack of a decrease of insulin secretion (neither without nor with adjustment for insulin sensitivity) in cluster 6 suggests that hyperinsulinemia was not mitigated by LI. Further studies are needed to investigate the causes and therapeutic possibilities of hyperinsulinemia in this cluster.

Cluster 5 is characterized by insulin resistance, excessive liver fat content, and inadequate insulin secretion (Wagner *et al.*, 2021). Our data suggest that liver fat content, but not body weight loss, is an important modulator of β -cell function. Cell culture models show that a metabolic milieu characterized by a fatty liver and insulin resistance promotes inflammatory cytokine production in adipose tissue adjacent to the pancreatic islets, which is in turn detrimental to insulin secretion (Gerst *et al.*, 2017). Therefore, lowering liver fat has the potential to relieve compromised β -cell function in this prediabetes subphenotype.

Deterioration in β -cell function precedes the onset of type 2 diabetes (Lyssenko *et al.*, 2005), and increasing insulin secretion has been associated with lower diabetes risk in participants of the Diabetes Prevention Program (The Diabetes Prevention Program Research Group, 2005). An improvement of β -cell function paralleling liver fat reduction has already been shown in patients with diabetes (Lim *et al.*, 2011), but has not yet been reported in prediabetes (Schmid *et al.*, 2017). Therapeutic strategies addressing hepatic fat reduction could be pivotal in improving insulin secretion and thereby preventing hyperglycemia in a subset of patients on a trajectory toward type 2 diabetes.

The assessment of a C-peptide–based insulin secretion index in this study allowed us to determine insulin secretion without interference from hepatic insulin clearance. However, even this OGTT-based index could inherently capture insulin resistance due to the physiologically intertwined nature of insulin secretion

and insulin resistance. Also, we retrospectively analyzed data from an interventional study with different treatment arms, such that despite careful adjustment for treatment, a residual confounding might remain.

Our work identifies clusters of patients with prediabetes who respond to LI with better β -cell function and delineates a group with particular benefits from liver fat reduction. Therapeutic modalities reducing liver fat content should be prospectively tested in future studies for high-risk individuals to prevent diabetes and its complications.

3. Diskussion

Die erste der vorgelegten Arbeiten zeigt, dass die gewichtsverlustabhängige Remission des Prädiabetes, induziert durch eine Verbesserung der Insulinresistenz, mechanistisch durch eine präferentielle Abnahme von viszeralem Fettgewebe und vermutlich in der Folge reduzierter Mikroinflammation zustande kommt. Es besteht durch die Rückkehr zur normalen Glukoseregulation aus dem Stadium des Prädiabetes ein besonders effektiver Schutz vor der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2. Wir schlagen in dieser Arbeit daher das Konzept der Prädiabetes-Remission vor und plädieren dafür, die Prädiabetes-Remission zum Ziel der Beratung und Behandlung von Patienten mit Prädiabetes zu machen.

3.1 *Twin Cycle*- Hypothese

Die mechanistischen Erkenntnisse über die Remission des Prädiabetes ist vor dem Hintergrund bisheriger Erkenntnisse und Modelle zur Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2 einzuordnen. Die von Taylor und Kollegen vorgeschlagene Modellvorstellung von der Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2, die sogenannte „Twin Cycle“-Hypothese (Taylor, 2024), die in weiten Teilen von experimentellen Daten gestützt ist, sieht eine langfristig positive Kalorienbilanz als treibende Kraft hinter zwei ineinandergreifenden Teufelskreisen. Ein Kalorienüberschuss führt zunächst zu einer vermehrten hepatischen Lipogenese, die einen erhöhten intrahepatischen Fettgehalt verursacht. Daraus folgt einerseits eine Insulinresistenz der Leber mit inadäquater Supprimierbarkeit der endogenen Glukoseproduktion, die zu einer erhöhten Nüchternglukose und damit kompensatorisch erhöhten basalen Insulinsekretion führt. Zudem ist die hepatische Insulin-Clearance als Folge der verringerten hepatischen Glukosesensitivität reduziert. Diese reduzierte Insulin-Clearance hat einen wesentlichen Anteil an der systemischen Hyperinsulinämie, die als Folge der zunehmenden hepatischen Insulinresistenz entsteht (Taylor, 2024).

Andererseits kommt es zu einem erhöhten VLDL-1-Triglyceridexport und so zu einer Expansion des Fettgewebes. Dabei gelingt die Energiespeicherung zunächst noch metabolisch weitgehend neutral im subkutanen Fettgewebe. Sind

die Speicherkapazitäten dieses Systems erschöpft, entstehen ektope Fettdepots. Hier kommt insbesondere dem visceralen und Pankreasfett eine besondere Rolle zu (Taylor, 2024). Diese Depots sind mit erhöhter Makrophageninfiltration und Sekretion inflammatorischer Zytokine assoziiert (Caprio, Perry and Kursawe, 2017). Insbesondere im direkten Umfeld der Betazellen des Pankreas verursacht diese nicht-infektiöse Mikroinflammation Einschränkungen der Sekretionskapazität (Gerst *et al.*, 2017), sodass zunehmend postprandial keine adäquate Erhöhung der Insulinsekretion als Reaktion auf die zugrundeliegende Insulinresistenz erfolgen kann, während gleichzeitig die basale Insulinsekretion erhöht ist. Durch die zunächst postprandial verlängerte und stärker ausgeprägte, im Verlauf zunehmend chronische Hyperglykämie und erhöhte Fettsäurekonzentrationen, die durch das Mehraufkommen hepatischer Liponeogenese einerseits und unzureichende Lipolysesuppression als Folge adipozytärer Insulinresistenz andererseits entsteht, verschlechtert sich die Insulinresistenz weiter. Die negativen Effekte, die Triglyceride und Glukose durch den vermehrten Anfall reaktiver Sauerstoffspezies oder intrazellulärer Akkumulation haben, werden als Glukolipotoxizität subsumiert (Poitout and Robertson, 2008). Auch der systemische Inflammationstonus nimmt mit wachsenden ektopen Fettdepots stetig zu und trägt weiter sowohl zur Stimulation der Lipolyse als auch zur Kompromittierung der Insulinsekretionskapazität und Aggravation der peripheren Insulinresistenz bei (Glass and Olefsky, 2012). Selbst bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und niedrigen BMI sowie klassischerweise nicht als steatotisch definiertem Leberfettgehalt kann eine Körpergewichts- und Leberfettreduktion eine Verbesserung der Glukosestoffwechsellage bis hin zur Diabetes-Remission hervorrufen (Taylor *et al.*, 2023). Dies bestärkt die Autoren in der Annahme eines individuellen Schwellenwerts der metabolisch gesunden Fettspeicherkapazität, aber auch individuelle Schwellenwerte für erhöhten Leberfettgehalt, nach deren Überschreiten der oben beschriebene doppelte Teufelskreis in Gang gesetzt wird. Die Umkehr dieser Teufelskreise durch Gewichtsverlust konnte von Taylor und Kollegen sowohl im mit Übergewicht vergesellschafteten Diabetes mellitus Typ 2 als auch in Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 und Normalgewicht gezeigt werden. Das Wiederauftreten eines Diabetes mellitus Typ 2 nach initialer Remission ist durch eine neuerliche Aktivierung dieser Teufelskreise im Rahmen

steigender Kalorienzufuhr mit einer Zunahme des Leber- und Pankreasfettgehalts, vermehrtem VLDL-1-Triglycerid-Export sowie sinkender Insulinsekretionskapazität der Betazellen gekennzeichnet (Al-Mrabeih *et al.*, 2020).

In unserer Analyse konnten wir für Menschen mit Prädiabetes zeigen, dass das Leberfett sowohl in Probanden, die zur normalen Glukoseregulation zurückkehrten, als auch in Probanden, die im Stadium des Prädiabetes verblieben, nach Lebensstilintervention um etwa 60% reduziert war, ohne dass Unterschiede zwischen den Gruppen sichtbar wurden. Interessanterweise zeigte sich jedoch ein stärkerer Rückgang der hepatischen Insulinresistenz in der Remissionsgruppe, was im Sinne der Hypothese individueller Schwellenwerte pathologischen Leberfettgehalts interpretiert werden könnte.

Eine Reduktion des Leberfettgehalts um mehr als 20% führte nicht zu einer weiteren Verbesserung der Remissionsrate. Es zeigte sich keine Proportionalität zwischen Abnahme des Leberfettgehalts und Wahrscheinlichkeit einer Prädiabetes-Remission. Auch ein klarer Schwellenwert der Leberfett-Reduktion oder eines bestimmten postinterventionellen Leberfettgehalts, den im Sinne eines Schwellenwertes zu unterschreiten Remission wahrscheinlicher machte, konnten wir nicht identifizieren.

Das viszerale Fettgewebe in der Remissionsgruppe ging stärker zurück als in der Nicht-Remissionsgruppe. Hier zeigte sich eine Proportionalität der Wahrscheinlichkeit, zur normalen Glukoseregulation zurückzukehren, mit dem Ausmaß des Verlustes an viszeralem Fettgewebe. Bemerkenswert ist hier, dass die vermehrte Reduktion viszeralen Fettgewebes in Probanden, die zu normaler Glukoseregulation zurückkehren, nicht vom Ausmaß des Gewichtsverlusts während der Intervention abhängig ist.

3.2 Assoziation von intrahepatischem Lipidgehalt und viszeralem Fettgewebe mit der Insulinresistenz

Der differentielle Anteil von viszeralem Fettgewebe und hepatischer Steatose an der Pathogenese der Insulinresistenz ist nicht vollständig aufgeklärt. Varianz im Volumen des viszeralen Fettgewebes bei unverändertem (hohem) Leberfettgehalt sind nicht mit Veränderungen der Insulinsensitivität assoziiert, während die Varianz des Leberfettgehalts unter diesen Bedingungen positiv mit

der systemischen Insulinresistenz korreliert sind (Fabbrini *et al.*, 2009; Kantartzis *et al.*, 2010; Iliodromiti *et al.*, 2023). Unter Bedingungen niedrigen Leberfettgehalts ist dieses Verhältnis jedoch umgekehrt (Kim *et al.*, 2011; Ding *et al.*, 2018): Wenn der Leberfettgehalt niedrig ist, korrelieren Varianzen der Insulinsensitivität mit der Varianz des visceralen Fettvolumens. Auch wenn es sich bei den angeführten Studien nicht um Längsschnittstudien handelt, sind ihre Erkenntnisse gut mit den hier vorliegenden Daten in Einklang zu bringen, da in beiden Gruppen nach Interventionsende niedrige, zumeist normwertige Leberfettanteile zu beobachten sind.

Ein entscheidender Faktor bei der Entstehung von Insulinresistenz ist die Zunahme der intrazellulären Lipidkonzentration (Petersen and Shulman, 2006). Hepatozyten (Lyu *et al.*, 2020) werden insulinresistent, wenn der sn-1,2-Diacylglycerol-Gehalt in der Zellmembran steigt, da es hierdurch zu einer Translokation und Aktivierung der Proteinkinase C ϵ mit folgender Inaktivierung des Insulinrezeptors durch Phosphorylierung des Threonins 1160 kommt (Roden and Shulman, 2019).

Als Quelle von insulinresistenz-induzierenden freien Fettsäuren kommt dem viszeralen Fettgewebe aufgrund seiner venösen Drainage in das Portalsystem (und damit direkt zur Leber) besonders für adipöse Personen eine wichtigere Rolle zu als dem restlichen Fettgewebe. Darüber hinaus sind die aus viszeralen Adipozyten freigesetzten freien Fettsäuren und Glycerol Ursache einer Expansion des hepatischen Acetyl-CoA-Pools, die wiederum allosterisch die hepatische Gluconeogenese stimuliert. Eine Erhöhung der lipolytischen Aktivität mit den beschriebenen Folgen liegt auch dem Einfluss pro-inflammatorischer Zytokine aus dem viszeralen Fettgewebe auf die hepatische Insulinsensitivität und Gluconeogenese zugrunde (Nielsen *et al.*, 2004; Després and Lemieux, 2006; Perry *et al.*, 2015; Sethi and Hotamisligil, 2021).

3.2 Die Rolle der Mikroinflammation

Dazu konnten wir in der vorliegenden Analyse zeigen, dass die Konzentration des TNF α -Rezeptoragonisten TNF β und seine Signalproteine VCAM1 und ICAM1 in der Remissionsgruppe stärker abfiel. Eine Stimulation von humanen Adipozyten mit TNF β *ex vivo* rief eine Insulinresistenz-Signatur mit reduzierter

Akt-Phosphorylierung sowie Einschränkung des supprimierenden Effekts von Insulin auf die Lipolyse hervor. Wir konnten also erstmals *in vitro* zeigen, dass TNF β Insulinresistenz in Adipozyten verursacht. Die TNF-Signalkaskade war die erste proinflammatorische Signalkaskade, die ursächlich mit Insulinresistenz in Verbindung gebracht werden konnte (Hotamisligil, Shargill and Spiegelman, 1993). Interessanterweise machen Makrophagen mit bis zu 40% einen großen Anteil an der absoluten Zellzahl in Fettgewebe aus (Weisberg *et al.*, 2003). Im nicht-adipösen Zustand kommen ihnen wichtige regulatorische Funktionen zur Aufrechterhaltung der adipozytären Identität von Zellen in ihrer Umgebung zu. Diese Funktion ändert sich im Kontext zunehmender Größe eines Fettdepots (Lumeng, Bodzin and Saltiel, 2007). Wächst das beobachtete Fettdepot, kann dies auf mechanistisch verschiedene Weisen passieren. Eine Möglichkeit ist die Hyperplasie, also Wachstum durch Zunahme der Anzahl an Adipozyten ohne Größenzunahme einzelner Adipozyten. Die alternative Möglichkeit für Fettdepots, mehr Energie zu speichern, ist die Hypertrophie, also Wachstum durch Größenzunahme der Adipozyten, ohne Veränderung der Zellzahl. Diese Form des Wachstums führt zu einer Erhöhung der Wahrscheinlichkeit der Apoptose einzelner Adipozyten. Dieser Vorgang führt zu einer vermehrten Infiltration des Gewebes mit Makrophagen (Cinti *et al.*, 2005). In visceralen Fettdepots finden vornehmlich hypertrophe Wachstumsprozesse statt, in subkutanen Fettdepots dominieren dagegen hyperplastische Mechanismen (Kim *et al.*, 2014). Die Aktivierung von Makrophagen, die mit zunehmender Depotgröße insbesondere das viscerele Fettgewebe infiltrieren, führt zu systemischer, nicht-infektiöser Mikroinflammation. Daher ist das viscerele Fettdepot in besonderem Maße mit systemischer Mikroinflammation assoziiert (Fontana *et al.*, 2007). Da TNF α seine Wirkung vor allem lokal entfaltet, herrschte lange Unklarheit über seine Rolle in der Entwicklung systemischer Insulinresistenz (Löfgren *et al.*, 2000). Diese Konstellation könnte den fehlenden Nachweis erhöhter systemischer TNF α -Konzentrationen in unserer Kohorte erklären.

3.3 Klinische Bedeutung der Prädiabetes-Remission

Die klinische Bedeutung einer Rückkehr aus dem Stadium des Prädiabetes zur normalen Glukoseregulation ist in Teilen bereits aus dem DPPOS bekannt. Hier

zeigte sich eine Reduktion der Inzidenz von Diabetes mellitus Typ 2 und mikrovaskulärer Komplikationen des Diabetes mellitus Typ 2 mit jedoch leicht anderer Definition (Perreault *et al.*, 2009, 2012, 2019). Auch wir zeigen in der vorgelegten Analyse eine deutliche Reduktion des Risikos der Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 und im Langzeit-*follow-up* niedrigere Urinalalbumin-Exkretion und besseres mikrovaskuläres Profil der Remissionsgruppe mit strengen Remissionskriterien (Normalisierung der Nüchtern-Glukose, 2 Stundenglukose und des HbA1c).

Das verbesserte mikrovaskuläre Profil und die niedrigere Albumin-Exkretion in der Remissionsgruppe sind weitere Hinweise auf eine mögliche Prävention über die Inzidenz von Diabetes mellitus Typ 2 hinaus auch im Bezug auf Komplikationen des metabolischen Syndroms. Die im Rahmen der Einleitung erörterten Pathomechanismen dieser Komplikationen stehen mechanistisch im engen Zusammenhang mit der Entwicklung einer Insulinresistenz (Brownlee, 2001), deren Verbesserung maßgeblich für die Remission des Prädiabetes im Kontext einer lebensstilinterventionsinduzierten Gewichtsabnahme ist, wie wir zeigen konnten. Die Bedeutung der Remission des Prädiabetes für die Verhinderung von kardiovaskulären Ereignissen ist Gegenstand aktueller Forschung. Ein erstes positives Signal ist diesbezüglich eine Analyse der Da-Quing-Studienpopulation, wo der positive Effekt der Lebensstilintervention jedoch nach Adjustierung für die Dauer der dysregulierten Glucosestoffwechsellage nicht mehr nachweisbar ist (Gong *et al.*, 2019). Dies spricht dafür, dass zumindest ein Teil dieser Effekte auch Glukose-vermittelt sein kann und dafür Glukosezielwerte in aktuelle Behandlungsleitlinien aufzunehmen.

3.4 Prädiabetes-Remission als Prävention: Implikationen zur Änderung der Leitlinie

Die Remission metabolischer Erkrankungen hat in letzter Zeit viel Aufmerksamkeit erfahren, maßgeblich beeinflusst durch den Erfolg des DIRECT-Trials (Lean *et al.*, 2018). Eine Expertengruppe der amerikanischen Diabetesassoziation (ADA) definiert Diabetesremission als HbA1c kleiner 6,5% nach mindestens 3 Monaten ohne blutzuckersenkende Medikation (Riddle *et al.*, 2021). Wir schlagen vor, das Konzept der Remission auf den Status des Prädiabetes auszuweiten und Remission des Prädiabetes zu definieren als

HbA1c kleiner als 5,7%, Nüchtern glukose kleiner 5,6 mmol/L und 2 Stunden Glukose im oGTT kleiner 7,8 mmol/L in denjenigen Patienten, die vormals im Status des Prädiabetes waren und seit mindestens 3 Monaten keine glukosesenkende Medikation einnehmen. Prädiabetes-Remission sollte ein primäres Therapieziel im Management von Patienten mit Prädiabetes werden. Die Bedeutung der Remission des Prädiabetes wird in einer kürzlich veröffentlichten post-hoc Analyse von Daten aus dem Diabetes-Präventionsprogramm DPP deutlich (Jumpertz von Schwartzberg *et al.*, 2024). Hier verglichen wir zwei Gruppen miteinander, die beide das in den Leitlinien empfohlene Gewichtsreduktionsziel von mindestens 7% des Ausgangskörpergewichts erreichten (ElSayed *et al.*, 2023). Die erste Gruppe der Responder erreichte nach Ende der Lebensstilintervention eine Prädiabetes-Remission nach den oben beschriebenen Kriterien, die zweite Gruppe genügte weiterhin den Prädiabetes-Definitionskriterien der ADA. In den 6 Jahren nach Ende der Lebensstilintervention zeigte sich in der Gruppe, die neben dem leitliniengerechten Körpergewicht von mindestens 7% eine Prädiabetes-Remission erreicht hatte (ElSayed *et al.*, 2023), eine Diabetes mellitus Typ 2-Risikoreduktion von 76% im Vergleich zur Gruppe, die nur das leitliniengerechte Körpergewichtsverlustziel erreicht hatte, jedoch keine Prädiabetes Remission aufwies. Somit ist die Prädiabetes-Remission ein wichtiger Faktor in der Prävention der Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2, was als primäres Therapieziel in der Behandlungsleitlinie aufgeführt wird. Diese Daten unterstreichen den Nutzen der zusätzlichen Prädiabetes-Remission neben dem erfolgreichen Gewichtsverlust. Ohne Frage steigert ein stärker ausgeprägter Gewichtsverlust die Wahrscheinlichkeit einer Remission. Das konnte sowohl für Prädiabetes (Sandforth *et al.*, 2023) als auch im Diabetes mellitus Typ 2 gezeigt werden (Lean *et al.*, 2018). In einer der ersten Studien, die zur Beschreibung der Mechanismen einer Remission des Diabetes mellitus Typ 2 durchgeführt wurde, führten Petersen *et al.*, 2005 eine auf Gewichtsverlust gerichtete Lebensstilintervention mit glykämischen Zielwerten durch (d.h.: Hypokalorische, fettarme Diät bis zum Erreichen bestimmter Glukoseregulationsziele, also mit unterschiedlicher Interventionsdauer und deutlichen Differenzen hinsichtlich des Gewichtsverlusts). Auch nach bariatrischer Operation mit extremem Gewichtsverlust ist in einigen Prädiabetes-Clustern lediglich eine Remissionsrate

von 54% zu erreichen (Sandforth *et al.*, 2024). Obwohl durch diesen Gewichtsverlust ein präventiver Effekt hinsichtlich Diabetes mellitus Typ 2 erzielt werden kann (Carlsson *et al.*, 2012), sind also fast 50% dieser Patienten auch nach bariatrischer Operation mit Gewichtsverlust weit jenseits der aktuellen Leitlinienempfehlung von 7% des Ausgangsgewichts weiterhin den erhöhten Komplikationsrisiken, die mit einer prädiabetischen Stoffwechsellage assoziiert sind, ausgesetzt (Rooney *et al.*, 2024). Die große interindividuelle Varianz im Gewichtsverlust, der erreicht werden muss, um eine klinisch bedeutsame Verbesserung der Glukoseregulation zu erreichen, erschwert es, allgemeingültige Körpergewichtsverlust-Zielwerte für das Monitoring einer Intervention abzuleiten. Die Behandlungsziele um die Prädiabetes-Remission und somit glykämische Zielwerte zu erweitern, wäre eine Möglichkeit, diese Herausforderung zu adressieren. Eine europäische Leitlinie liegt hierzu bislang nicht vor, soll aber zeitnah erstellt werden.

3.5 Clusterspezifische Unterschiede in den Mechanismen der Verbesserung der Glukoseregulation durch Lebensstilintervention

Die zweite der vorgelegten Arbeiten zeigt, dass auch die Insulinsekretion durch eine Lebensstilintervention verbessert werden kann, zumindest in Patienten mit Prädiabetes, die zu den Hochrisikoclustern 3 und 5 gehören. Dieses Erkenntnis stellt einen Schritt auf dem Weg zur personalisierten Therapie des Prädiabetes dar.

Der Anstieg in der Insulinsekretion ist dabei proportional zum Ausmaß des Leberfettverlusts während der Intervention, was sich gut mit der zuvor diskutierten twin cycle-Hypothese vereinbaren lässt.

Interpretiert man die zweite vorgelegte Arbeit im Kontext der ersten, wird erneut deutlich, dass es sich beim Prädiabetes (ähnlich wie beim Diabetes mellitus Typ 2) auch mechanistisch um eine heterogene Erkrankung handelt. Während im Rahmen des Gewichtsverlusts auf das Ziel der Remission bezogen hauptsächlich eine Verbesserung der Insulinsensitivität in der Gesamtkohorte im Angesicht überproportional reduzierten viszeralen Fettgewebes die führende Rolle zu spielen scheint, zeigt die zweite Arbeit klar, dass ein Teil der Hochrisiko-Probanden mit hohem Leberfettgehalt während der Lebensstilintervention vor

allem ihr Leberfettgehalt senken und über eine Steigerung der Insulinsekretionskapazität eine verbesserte Glukosestoffwechsellage erreichen können. Diese Heterogenität unterstreicht die Notwendigkeit, weitere Anstrengungen in Richtung Präzisions-Diabetologie und Präzisionsprävention zu unternehmen (Tobias *et al.*, 2023).

3.6 Stärken und Limitationen

Die umfassende Phänotypisierung, das große Probandenkollektiv sowie der lange *follow-up*-Zeitraum und die Validierung der Ergebnisse in einer unabhängigen Kohorte sind Stärken der ersten vorgelegten Arbeit. Die Etablierung des Konzepts der Remission des Prädiabetes und die Forderung, Prädiabetes-Remission als Therapieziel in aktuelle Leitlinien aufzunehmen, zeigt das Potential dieser Arbeit.

Die Unterteilung der PLIS-Kohorte in die neu definierten Prädiabetes-Risikocluster und differenzierte Darstellungen der Mechanismen der Verbesserung der Glukoseregulation durch Lebensstilintervention in der zweiten vorgelegten Arbeit zeigen wichtige physiologische Differenzen zwischen diesen Clustern auch im dynamischen Setting einer Lebensstilintervention. Hier wird die Notwendigkeit einer Würdigung der Heterogenität der Patienten mit Prädiabetes deutlich, was einen Schritt in Richtung der Präzisionsprävention und damit eine weitere Stärke der vorgelegten Arbeit darstellt.

Eine wichtige Limitation ergibt sich daraus, dass die Insulinsensitivität und -sekretion nicht mittels Goldstandard-Methoden erfasst, sondern durch Indizes aus dem oralen Glukosetoleranztest als Surrogatmarker geschätzt wurden. Es ist jedoch darauf hinzuweisen, dass zur Erfassung der Insulinsekretion ein C-Peptid-basierter Index Anwendung fand, der in deutlich geringerem Ausmaß den Schwankungen der hepatischen Insulin-*clearance* unterworfen ist, als es insulinbasierte Indices sind (Prystupa *et al.*, 2022). Zudem zeigen alle verwendeten Indizes in Vorpublikationen sehr enge Korrelationen mit der per Goldstandard-Methode ermittelten Insulinsekretion und -Sensitivität (Prystupa *et al.*, 2022). Darüber hinaus besteht eine Limitation darin, dass die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen primär auf einer mitteleuropäisch-deutschen Bevölkerung beruhen und somit möglicherweise nicht auf andere Ethnizitäten

übertragbar sein könnten. Eine weitere Limitation liegt darin, dass die Phänotypisierung der Mikrogefäßstruktur der Haut nur zu einem Zeitpunkt in der Langzeitverfolgung gemessen wurde, wodurch die Verbindung zur Prädiabetes Remission rein assoziativer Natur ist.

4. Zusammenfassung

Eine Lebensstilintervention bei Menschen mit Prädiabetes kann das Risiko einer Progression zum Diabetes mellitus Typ 2 verringern, was am effektivsten durch eine Rückkehr zu normaler Glukoseregulation erreicht wird. Die Effekte der Lebensstilintervention sind im Kontext eines Gewichtsverlusts hauptsächlich durch eine Verbesserung der Insulinsensitivität vermittelt. Innerhalb der heterogenen Subcluster des Prädiabetes gibt es jedoch einen Anteil an Patienten mit besonders hohem metabolischem Risiko, die im Rahmen ihrer umfassenden Reduktion des Leberfettanteils auch ihre Insulinsekretion verbessern können. Diese Erkenntnis ist ein wichtiger Schritt in Richtung Präzisionsdiabetologie, mit deren Hilfe in Zukunft maßgeschneiderte Therapien und Interventionen im Kontrast zum jetzigen *one size fits all*-Ansatz dabei helfen wird, die Last durch Diabetes mellitus Typ 2 und assoziierte Folgeerkrankungen zu reduzieren.

Die besondere Bedeutung des ektopen Fettgewebes in der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2 im Stadium des Prädiabetes verdeutlicht, dass eine präferentielle Reduktion des viszeralen Fettgewebes im Rahmen eines Körpergewichtsverlustes Vorteile bietet, was durch konkrete Zielwerte monitoriert werden kann.

Interessanterweise unterscheidet sich der Mechanismus der Remission des Prädiabetes deutlich von der Remission des Diabetes mellitus Typ 2, insbesondere hinsichtlich der Rolle der Insulinsekretion. Auch hier öffnet sich ein Fenster für maßgeschneiderte präventive Interventionen.

Wir definieren in der vorliegenden Arbeit das Konzept der Prädiabetes-Remission und zeigen deren präventives Potential hinsichtlich der Reduktion des Risikos, einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln und potenziellen Vermeidung von Typ 2 Diabetes assoziierten Komplikationen. Unsere Ergebnisse sowohl hinsichtlich der Mechanismen der Prädiabetes-Remission als auch seine protektiven Effekte konnten wir in der bislang größten Diabetes-Präventionsstudie in der westlichen Welt (DPP) reproduzieren. Wir schlagen daher vor, das glykämische Ziel einer Normalisierung des Glukosestoffwechsels neben der bereits empfohlenen Reduktion des Körpergewichts als Primärziel für das Management von Patienten mit Prädiabetes in aktuelle Leitlinien aufzunehmen.

5. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Universitätsklinik Tübingen, Medizinische Klinik IV, Klinik für Diabetologie, Endokrinologie und Nephrologie, unter Betreuung von Prof. Dr. med. Reiner Jumpertz-von Schwartzberg verfasst.

An der Konzeption der Analysen der Subpopulation mit mindestens 5% Gewichtsverlust aus PLIS (1. Arbeit) war ich gemeinsam mit Prof. Jumpertz-von Schwartzberg und Prof. Dr. Andreas Birkenfeld beteiligt.

Die vollständige statistische Analyse der Subpopulation mit mindestens 5% Gewichtsverlust aus PLIS und die Erstellung aller Diagramme wurde von mir eigenständig durchgeführt. Ich habe den ersten Entwurf des publizierten Manuskripts verfasst.

Teil der Erstellung dieser Arbeit war meine Rolle als Zusätzlicher Betreuer für Karl David Lange im Rahmen seiner Promotion bei Prof. Dr. Andreas Fritsche.

Die Analyse der Prädiabetes-Cluster in PLIS (2. Arbeit) habe ich im Rahmen der internen Qualitätskontrolle selbstständig reproduziert. An der Manuskripterstellung sowie der Dateninterpretation war ich beteiligt.

Im Rahmen meiner Promotion war ich als Studienarzt im Institut für Diabetesforschung und Metabolische Erkrankungen des Helmholtz-Zentrums München an der Universität Tübingen eingesetzt und habe Studienvisiten und Goldstandardmethoden zur metabolischen Phänotypisierung, wie dem oralen Glukosetoleranztest, hyperglykämischen Clamps, der Gewinnung von Muskelbiopsien sowie Messungen der Insulinsensitivität des Gehirns durchgeführt. In der Nachwuchsorganisation des Deutschen Zentrums für Diabetesforschung DZD NEXT vertrete ich als Standortsprecher den Standort Tübingen und habe in dieser Funktion 2021-2022 eine Vortragsreihe für Nachwuchswissenschaftler am Standort Tübingen sowie 2023 ein Symposium des DZD NEXT mit etwa 100 Teilnehmern in Tübingen organisiert.

2022 (Vortrag), 2023 (Poster, eingeladener Vortrag) und 2024 (2 Poster, eingeladener Vortrag) habe ich beim Deutschen Diabetes Kongress der DDG in Berlin Teile der hier publizierten Daten präsentiert und wurde im Jahr 2023 mit einen Posterpreis ausgezeichnet. 2022 (Vortrag), 2023 (Poster) und 2024 (Vortrag, Poster) habe ich an den Scientific Sessions der ADA teilgenommen und jeweils Teile der hier publizierten Daten präsentiert. 2022 (Teilnehmer) und 2023 (Sitzungsvorsitzender) habe ich am EASD sowie der Diabetes Summer School des DZD teilgenommen.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Arvid Sandforth

Tübingen, den 23.01.2025

6. Literatur

Abdul-Ghani, M.A. *et al.* (2007) 'Muscle and Liver Insulin Resistance Indexes Derived From the Oral Glucose Tolerance Test', *Diabetes Care*, 30(1), pp. 89–94. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc06-1519>.

Aguirre, J. *et al.* (2017) 'Precision assessment of label-free psoriasis biomarkers with ultra-broadband optoacoustic mesoscopy', *Nature Biomedical Engineering*, 1(5), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41551-017-0068>.

Ahlqvist, E. *et al.* (2018) 'Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables', *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 6(5), pp. 361–369. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30051-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30051-2).

Ahrén, B. *et al.* (2005) 'Improved Meal-Related β -Cell Function and Insulin Sensitivity by the Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitor Vildagliptin in Metformin-Treated Patients With Type 2 Diabetes Over 1Year', *Diabetes Care*, 28(8), pp. 1936–1940. Available at: <https://doi.org/10.2337/diacare.28.8.1936>.

Al-Mrabeh, A. *et al.* (2020) 'Hepatic Lipoprotein Export and Remission of Human Type 2 Diabetes after Weight Loss', *Cell Metabolism*, 31(2), pp. 233–249.e4. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.11.018>.

American Diabetes Association Professional Practice Committee (2023) '3. Prevention or Delay of Diabetes and Associated Comorbidities: Standards of Care in Diabetes—2024', *Diabetes Care*, 47(Supplement_1), pp. S43–S51. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc24-S003>.

Autoren (2014) 'Nationale VersorgungsLeitlinie Therapie des Typ-2-Diabetes (Teil 2)', *Diabetologie und Stoffwechsel*, 9, pp. 241–299. Available at: <https://doi.org/10.1055/s-0034-1384912>.

Bergman, M. *et al.* (2023) 'Current diagnostic criteria identify risk for type 2 diabetes too late', *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 11(4), pp. 224–226. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(23\)00039-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(23)00039-6).

Birkenfeld, A.L. and Shulman, G.I. (2014) 'Nonalcoholic fatty liver disease, hepatic insulin resistance, and type 2 diabetes', *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 59(2), pp. 713–723. Available at: <https://doi.org/10.1002/hep.26672>.

Blankenberg, S. *et al.* (2001) 'Circulating Cell Adhesion Molecules and Death in Patients With Coronary Artery Disease', *Circulation*, 104(12), pp. 1336–1342. Available at: <https://doi.org/10.1161/hc3701.095949>.

Bonora, E. *et al.* (2020) 'Chronic complications in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: prevalence and related metabolic and clinical features: the Verona Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Study (VNDS) 9', *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 8(1), p. e001549. Available at:

<https://doi.org/10.1136/bmjdr-2020-001549>.

Boyle, P.J. (2007) 'Diabetes Mellitus and Macrovascular Disease: Mechanisms and Mediators', *The American Journal of Medicine*, 120(9, Supplement 2), pp. S12–S17. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2007.07.003>.

Brownlee, M. (2001) 'Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications', *Nature*, 414(6865), pp. 813–820. Available at: <https://doi.org/10.1038/414813a>.

Buuren, S. van and Groothuis-Oudshoorn, K. (2011) 'mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R', *Journal of Statistical Software*, 45, pp. 1–67. Available at: <https://doi.org/10.18637/jss.v045.i03>.

Caprio, S., Perry, R. and Kursawe, R. (2017) 'Adolescent Obesity and Insulin Resistance: Roles of Ectopic Fat Accumulation and Adipose Inflammation', *Gastroenterology*, 152(7), pp. 1638–1646. Available at: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.12.051>.

Carlsson, L.M.S. *et al.* (2012) 'Bariatric Surgery and Prevention of Type 2 Diabetes in Swedish Obese Subjects', *New England Journal of Medicine*, 367(8), pp. 695–704. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1112082>.

CDC (2024) *National Diabetes Statistics Report, Diabetes*. Available at: <https://www.cdc.gov/diabetes/php/data-research/index.html> (Accessed: 16 September 2024).

Chow, H.-M. *et al.* (2019) 'Age-related hyperinsulinemia leads to insulin resistance in neurons and cell-cycle-induced senescence', *Nature Neuroscience*, 22(11), pp. 1806–1819. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0505-1>.

Cinti, S. *et al.* (2005) 'Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans', *Journal of Lipid Research*, 46(11), pp. 2347–2355. Available at: <https://doi.org/10.1194/jlr.M500294-JLR200>.

Cuff, C.A. *et al.* (1998) 'Lymphotoxin $\alpha 3$ Induces Chemokines and Adhesion Molecules: Insight into the Role of LT α in Inflammation and Lymphoid Organ Development¹', *The Journal of Immunology*, 161(12), pp. 6853–6860. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.161.12.6853>.

Davidson, M.B. (2011) 'Diagnosing Diabetes With Glucose Criteria: Worshipping a False God', *Diabetes Care*, 34(2), pp. 524–526. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc10-1689>.

Després, J.-P. and Lemieux, I. (2006) 'Abdominal obesity and metabolic syndrome', *Nature*, 444(7121), pp. 881–887. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature05488>.

Ding, C. *et al.* (2018) 'Visceral adipose tissue tracks more closely with metabolic dysfunction than intrahepatic triglyceride in lean Asians without diabetes',

Journal of Applied Physiology, 125(3), pp. 909–915. Available at: <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00250.2018>.

Donath, M.Y. *et al.* (2013) 'Inflammation in Obesity and Diabetes: Islet Dysfunction and Therapeutic Opportunity', *Cell Metabolism*, 17(6), pp. 860–872. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.05.001>.

Dwibedi, C. *et al.* (2024) 'Randomized open-label trial of semaglutide and dapagliflozin in patients with type 2 diabetes of different pathophysiology', *Nature Metabolism*, 6(1), pp. 50–60. Available at: <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00943-3>.

'EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease' (2016) *Journal of Hepatology*, 64(6), pp. 1388–1402. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.11.004>.

EISayed, N.A. *et al.* (2023) '2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023', *Diabetes Care*, 46(Suppl 1), pp. S19–S40. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>.

Fabbrini, E. *et al.* (2009) 'Intrahepatic fat, not visceral fat, is linked with metabolic complications of obesity', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(36), pp. 15430–15435. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0904944106>.

FABER, O.K. *et al.* (1981) 'Decreased Insulin Removal Contributes to Hyperinsulinemia in Obesity', *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 53(3), pp. 618–621. Available at: <https://doi.org/10.1210/jcem-53-3-618>.

Fleischman, A. *et al.* (2008) 'Salsalate Improves Glycemia and Inflammatory Parameters in Obese Young Adults', *Diabetes Care*, 31(2), pp. 289–294. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc07-1338>.

Fong, D. *et al.* (2004) 'Diabetic Retinopathy', *Diabetes Care*, 27, pp. 2540–2553. Available at: <https://doi.org/10.2337/diacare.27.10.2540>.

Fontana, L. *et al.* (2007) 'Visceral Fat Adipokine Secretion Is Associated With Systemic Inflammation in Obese Humans', *Diabetes*, 56(4), pp. 1010–1013. Available at: <https://doi.org/10.2337/db06-1656>.

Fowler, M.J. (2011) 'Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes', *Clinical Diabetes*, 29(3), pp. 116–122. Available at: <https://doi.org/10.2337/diaclin.29.3.116>.

Fowler, S. (2023) 'Diabetes Prevention Program'. NIDDK Central Repository. Available at: <https://doi.org/10.58020/3HW5-CF91>.

Fox, C.S. *et al.* (2007) 'Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study', *Circulation*, 116(1), pp. 39–48. Available at:

<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.675355>.

Fritsche, A., Wagner, R., Heni, M., Kantartzis, K., Machann, J., Schick, F., Lehmann, R., Peter, A., Dannecker, C., Fritsche, L., Valenta, V., Schick, R., Nawroth, P.P., Kopf, S., Pfeiffer, A.F.H., *et al.* (2021) 'Different Effects of Lifestyle Intervention in High- and Low-Risk Prediabetes: Results of the Randomized Controlled Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS)', *Diabetes*, 70(12), pp. 2785–2795. Available at: <https://doi.org/10.2337/db21-0526>.

Gabbay, K.H. (1975) 'Hyperglycemia, polyol metabolism, and complications of diabetes mellitus', *Annual review of medicine*, 26, pp. 521–536. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.me.26.020175.002513>.

Gaspar, R.C. *et al.* (2023) 'Distinct subcellular localisation of intramyocellular lipids and reduced PKC ϵ /PKC θ activity preserve muscle insulin sensitivity in exercise-trained mice', *Diabetologia*, 66(3), pp. 567–578. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-022-05838-8>.

Gastaldelli, A. *et al.* (2009) 'Importance of changes in adipose tissue insulin resistance to histological response during thiazolidinedione treatment of patients with nonalcoholic steatohepatitis', *Hepatology*, 50(4), pp. 1087–1093. Available at: <https://doi.org/10.1002/hep.23116>.

Gerst, F. *et al.* (2017) 'Metabolic crosstalk between fatty pancreas and fatty liver: effects on local inflammation and insulin secretion', *Diabetologia*, 60(11), pp. 2240–2251. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4385-1>.

Glass, C.K. and Olefsky, J.M. (2012) 'Inflammation and Lipid Signaling in the Etiology of Insulin Resistance', *Cell Metabolism*, 15(5), pp. 635–645. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.001>.

Gong, Q. *et al.* (2019) 'Morbidity and mortality after lifestyle intervention for people with impaired glucose tolerance: 30-year results of the Da Qing Diabetes Prevention Outcome Study', *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 7(6), pp. 452–461. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30093-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30093-2).

Green, P. and MacLeod, C.J. (2016) 'SIMR: an R package for power analysis of generalized linear mixed models by simulation', *Methods in Ecology and Evolution*, 7(4), pp. 493–498. Available at: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12504>.

Haedicke, K. *et al.* (2020) 'High-resolution optoacoustic imaging of tissue responses to vascular-targeted therapies', *Nature Biomedical Engineering*, 4(3), pp. 286–297. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41551-020-0527-8>.

Herman, W.H. *et al.* (2005) 'The cost-effectiveness of lifestyle modification or metformin in preventing type 2 diabetes in adults with impaired glucose tolerance', *Annals of Internal Medicine*, 142(5), pp. 323–332. Available at: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-142-5-200503010-00007>.

Hotamisligil, G.S., Shargill, N.S. and Spiegelman, B.M. (1993) 'Adipose Expression of Tumor Necrosis Factor- α : Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance', *Science*, 259(5091), pp. 87–91. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.7678183>.

Huang, Y. *et al.* (2016) 'Association between prediabetes and risk of cardiovascular disease and all cause mortality: systematic review and meta-analysis', *BMJ*, 355, p. i5953. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmj.i5953>.

Huang, Yi *et al.* (2014) 'Prediabetes and the risk of cancer: a meta-analysis', *Diabetologia*, 57(11), pp. 2261–2269. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3361-2>.

Hudak, S. *et al.* (2021) 'Reproducibility and discrimination of different indices of insulin sensitivity and insulin secretion', *PLoS ONE*, 16(10), p. e0258476. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258476>.

Iliodromiti, S. *et al.* (2023) 'Liver, visceral and subcutaneous fat in men and women of South Asian and white European descent: a systematic review and meta-analysis of new and published data', *Diabetologia*, 66(1), pp. 44–56. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-022-05803-5>.

Jumpertz von Schwartzberg, R. *et al.* (2024) 'Role of weight loss-induced prediabetes remission in the prevention of type 2 diabetes: time to improve diabetes prevention', *Diabetologia* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-024-06178-5>.

Kahn, B.B. (1998) 'Type 2 Diabetes: When Insulin Secretion Fails to Compensate for Insulin Resistance', *Cell*, 92(5), pp. 593–596. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81125-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81125-3).

Kahn, S.E. *et al.* (1993) 'Quantification of the relationship between insulin sensitivity and beta-cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function', *Diabetes*, 42(11), pp. 1663–1672. Available at: <https://doi.org/10.2337/diab.42.11.1663>.

Kantartzis, K. *et al.* (2010) 'The impact of liver fat vs visceral fat in determining categories of prediabetes', *Diabetologia*, 53(5), pp. 882–889. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1663-6>.

Keenan, H. *et al.* (2007) 'Clinical Factors Associated With Resistance to Microvascular Complications in Diabetic Patients of Extreme Disease Duration: The 50-year Medalist Study', *Diabetes care*, 30, pp. 1995–7. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc06-2222>.

Khan, M.A.B. *et al.* (2019) 'Epidemiology of Type 2 Diabetes – Global Burden of Disease and Forecasted Trends', *Journal of Epidemiology and Global Health*, 10(1), pp. 107–111. Available at: <https://doi.org/10.2991/jegh.k.191028.001>.

Kim, L.J. *et al.* (2011) 'Associations of Visceral and Liver Fat With the Metabolic Syndrome Across the Spectrum of Obesity: The AGES-Reykjavik Study',

Obesity, 19(6), pp. 1265–1271. Available at:
<https://doi.org/10.1038/oby.2010.291>.

Kim, S.M. *et al.* (2014) 'Loss of White Adipose Hyperplastic Potential Is Associated with Enhanced Susceptibility to Insulin Resistance', *Cell Metabolism*, 20(6), pp. 1049–1058. Available at:
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.10.010>.

Knowler, W.C. *et al.* (2002) 'Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin', *The New England Journal of Medicine*, 346(6), pp. 393–403. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012512>.

Lean, M.E. *et al.* (2018) 'Primary care-led weight management for remission of type 2 diabetes (DiRECT): an open-label, cluster-randomised trial', *The Lancet*, 391(10120), pp. 541–551. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)33102-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)33102-1).

Levin, A. *et al.* (2017) 'Global kidney health 2017 and beyond: a roadmap for closing gaps in care, research, and policy', *The Lancet*, 390(10105), pp. 1888–1917. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30788-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30788-2).

Ligthart, S. *et al.* (2016) 'Lifetime risk of developing impaired glucose metabolism and eventual progression from prediabetes to type 2 diabetes: a prospective cohort study', *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 4(1), pp. 44–51. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00362-9](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00362-9).

Lim, E.L. *et al.* (2011) 'Reversal of type 2 diabetes: normalisation of beta cell function in association with decreased pancreas and liver triacylglycerol', *Diabetologia*, 54(10), pp. 2506–2514. Available at:
<https://doi.org/10.1007/s00125-011-2204-7>.

Liu, M.Y. *et al.* (2005) 'Multiplexed Analysis of Biomarkers Related to Obesity and the Metabolic Syndrome in Human Plasma, Using the Luminex-100 System', *Clinical Chemistry*, 51(7), pp. 1102–1109. Available at:
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.047084>.

Löfgren, P. *et al.* (2000) 'Secretion of Tumor Necrosis Factor- α Shows a Strong Relationship to Insulin-Stimulated Glucose Transport in Human Adipose Tissue', 49.

Ludvik, B. *et al.* (1995) 'Effect of Obesity on Insulin Resistance in Normal Subjects and Patients With NIDDM', *Diabetes*, 44(9), pp. 1121–1125. Available at: <https://doi.org/10.2337/diab.44.9.1121>.

Lumeng, C.N., Bodzin, J.L. and Saltiel, A.R. (2007) 'Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization', *The Journal of Clinical Investigation*, 117(1), pp. 175–184. Available at:
<https://doi.org/10.1172/JCI29881>.

Lyssenko, V. *et al.* (2005) 'Predictors of and Longitudinal Changes in Insulin Sensitivity and Secretion Preceding Onset of Type 2 Diabetes', *Diabetes*, 54(1), pp. 166–174. Available at: <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.1.166>.

Lyu, K. *et al.* (2020) 'A Membrane-Bound Diacylglycerol Species Induces PKC ϵ -Mediated Hepatic Insulin Resistance', *Cell Metabolism*, 32(4), pp. 654-664.e5. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.08.001>.

Lyu, K. *et al.* (2021) 'Short-term overnutrition induces white adipose tissue insulin resistance through *sn*-1,2-diacylglycerol/PKC ϵ /insulin receptor Thr¹¹⁶⁰ phosphorylation', *JCI Insight*, 6(4). Available at: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.139946>.

Machann, J. *et al.* (2006) 'Hepatic lipid accumulation in healthy subjects: A comparative study using spectral fat-selective MRI and volume-localized ¹H-MR spectroscopy', *Magnetic Resonance in Medicine*, 55(4), pp. 913–917. Available at: <https://doi.org/10.1002/mrm.20825>.

Mari, A. *et al.* (2001) 'A Model-Based Method for Assessing Insulin Sensitivity From the Oral Glucose Tolerance Test', *Diabetes Care*, 24(3), pp. 539–548. Available at: <https://doi.org/10.2337/diacare.24.3.539>.

Matsuda, M. and DeFronzo, R.A. (1999) 'Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp.', *Diabetes Care*, 22(9), pp. 1462–1470. Available at: <https://doi.org/10.2337/diacare.22.9.1462>.

Matthews, D.R. *et al.* (1985) 'Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man', *Diabetologia*, 28(7), pp. 412–419. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF00280883>.

Neeland, I.J. *et al.* (2013) 'Associations of visceral and abdominal subcutaneous adipose tissue with markers of cardiac and metabolic risk in obese adults', *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 21(9), pp. E439-447. Available at: <https://doi.org/10.1002/oby.20135>.

Nielsen, S. *et al.* (2004) 'Splanchnic lipolysis in human obesity', *The Journal of Clinical Investigation*, 113(11), pp. 1582–1588. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI21047>.

Nowakowska, M. *et al.* (2019) 'The comorbidity burden of type 2 diabetes mellitus: patterns, clusters and predictions from a large English primary care cohort', *BMC Medicine*, 17(1), p. 145. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1373-y>.

O'Donovan, S.D. *et al.* (2019) 'Improved quantification of muscle insulin sensitivity using oral glucose tolerance test data: the MISI Calculator', *Scientific Reports*, 9(1), p. 9388. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45858-w>.

Perreault, L. *et al.* (2009) 'Regression From Pre-Diabetes to Normal Glucose Regulation in the Diabetes Prevention Program', *Diabetes Care*, 32(9), pp. 1583–1588. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc09-0523>.

Perreault, L. *et al.* (2012) 'Effect of regression from prediabetes to normal glucose regulation on long-term reduction in diabetes risk: results from the Diabetes Prevention Program Outcomes Study', *The Lancet*, 379(9833), pp. 2243–2251. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60525-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60525-X).

Perreault, L. *et al.* (2019) 'Regression From Prediabetes to Normal Glucose Regulation and Prevalence of Microvascular Disease in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study (DPPOS)', *Diabetes Care*, 42(9), pp. 1809–1815. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc19-0244>.

Perry, R.J. *et al.* (2015) 'Hepatic acetyl CoA links adipose tissue inflammation to hepatic insulin resistance and type 2 diabetes', *Cell*, 160(4), pp. 745–758. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.01.012>.

Perry, R.J. *et al.* (2017) 'Non-invasive assessment of hepatic mitochondrial metabolism by positional isotopomer NMR tracer analysis (PINTA)', *Nature Communications*, 8(1), p. 798. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01143-w>.

Petersen, K.F. *et al.* (2005) 'Reversal of Nonalcoholic Hepatic Steatosis, Hepatic Insulin Resistance, and Hyperglycemia by Moderate Weight Reduction in Patients With Type 2 Diabetes', *Diabetes*, 54(3), pp. 603–608. Available at: <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.3.603>.

Petersen, K.F. and Shulman, G.I. (2006) 'Etiology of Insulin Resistance', *The American Journal of Medicine*, 119(5, Supplement 1), pp. S10–S16. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2006.01.009>.

Poitout, V. and Robertson, R.P. (2008) 'Glucolipototoxicity: Fuel Excess and β -Cell Dysfunction', *Endocrine Reviews*, 29(3), pp. 351–366. Available at: <https://doi.org/10.1210/er.2007-0023>.

Prystupa, K. *et al.* (2022) 'Comprehensive validation of fasting-based and oral glucose tolerance test-based indices of insulin secretion against gold standard measures', *BMJ open diabetes research & care*, 10(5), p. e002909. Available at: <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2022-002909>.

Ramachandran, A. *et al.* (2006) 'The Indian Diabetes Prevention Programme shows that lifestyle modification and metformin prevent type 2 diabetes in Asian Indian subjects with impaired glucose tolerance (IDPP-1)', *Diabetologia*, 49(2), pp. 289–297. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-005-0097-z>.

Rasmussen, S.S. *et al.* (2008) 'Determinants of progression from impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance to diabetes in a high-risk screened population: 3 year follow-up in the ADDITION study, Denmark', *Diabetologia*, 51(2), pp. 249–257. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0893-8>.

Riddle, M.C. *et al.* (2021) 'Consensus Report: Definition and Interpretation of Remission in Type 2 Diabetes', *Diabetes Care*, 44(10), pp. 2438–2444. Available at: <https://doi.org/10.2337/dci21-0034>.

Roden, M. and Shulman, G.I. (2019) 'The integrative biology of type 2 diabetes', *Nature*, 576(7785), pp. 51–60. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1797-8>.

Rommel, A. *et al.* (2018) 'BURDEN 2020—Burden of disease in Germany at the national and regional level', *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 61(9), pp. 1159–1166. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00103-018-2793-0>.

Rooney, M.R. *et al.* (2023) 'Global Prevalence of Prediabetes', *Diabetes Care*, 46(7), pp. 1388–1394. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc22-2376>.

Rooney, M.R. *et al.* (2024) 'Prediabetes is associated with elevated risk of clinical outcomes even without progression to diabetes', *Diabetologia* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-024-06315-0>.

Sandforth, A. *et al.* (2023) 'Mechanisms of weight loss-induced remission in people with prediabetes: a post-hoc analysis of the randomised, controlled, multicentre Prediabetes Lifestyle Intervention Study (PLIS)', *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 11(11), pp. 798–810. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(23\)00235-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(23)00235-8).

SANDFORTH, L. *et al.* (2024) '1694-P: Subphenotype-Dependent Benefits of Bariatric Surgery in Data-Driven Clusters of Individuals at Risk for Type 2 Diabetes', *Diabetes*, 73(Supplement_1), pp. 1694-P. Available at: <https://doi.org/10.2337/db24-1694-P>.

Schlesinger, S. *et al.* (2022) 'Prediabetes and risk of mortality, diabetes-related complications and comorbidities: umbrella review of meta-analyses of prospective studies', *Diabetologia*, 65(2), pp. 275–285. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-021-05592-3>.

Schmid, V. *et al.* (2017) 'Non-alcoholic fatty liver disease and impaired proinsulin conversion as newly identified predictors of the long-term non-response to a lifestyle intervention for diabetes prevention: results from the TULIP study', *Diabetologia*, 60(12), pp. 2341–2351. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4407-z>.

Sethi, J.K. and Hotamisligil, G.S. (2021) 'Metabolic Messengers: tumour necrosis factor', *Nature Metabolism*, 3(10), pp. 1302–1312. Available at: <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00470-z>.

Shah, P. *et al.* (2024) 'Informed Consent', in *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430827/> (Accessed: 30 September 2024).

Smith, U. (2015) 'Abdominal obesity: a marker of ectopic fat accumulation', *The Journal of Clinical Investigation*, 125(5), pp. 1790–1792. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI81507>.

Snehalatha, C. *et al.* (2009) 'Changes in Insulin Secretion and Insulin Sensitivity in Relation to the Glycemic Outcomes in Subjects With Impaired Glucose Tolerance in the Indian Diabetes Prevention Programme-1 (IDPP-1)', *Diabetes Care*, 32(10), pp. 1796–1801. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc09-0676>.

Stefan, N. *et al.* (2015) 'A high-risk phenotype associates with reduced improvement in glycaemia during a lifestyle intervention in prediabetes', *Diabetologia*, 58(12), pp. 2877–2884. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3760-z>.

Stefan, N. *et al.* (2016) 'Phenotypes of prediabetes and stratification of cardiometabolic risk', *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 4(9), pp. 789–798. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(16\)00082-6](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(16)00082-6).

Stefan, N. (2020) 'Causes, consequences, and treatment of metabolically unhealthy fat distribution', *The Lancet. Diabetes & Endocrinology*, 8(7), pp. 616–627. Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30110-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30110-8).

Stefan, N. (2023) 'Prädiabetes – eine Krankheit?', *Die Diabetologie*, 19(2), pp. 215–222. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11428-022-00971-9>.

Tabák, A.G. *et al.* (2009) 'Trajectories of glycaemia, insulin sensitivity, and insulin secretion before diagnosis of type 2 diabetes: an analysis from the Whitehall II study', *The Lancet*, 373(9682), pp. 2215–2221. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60619-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60619-X).

Tabák, A.G. *et al.* (2012) 'Prediabetes: a high-risk state for diabetes development', *Lancet (London, England)*, 379(9833), pp. 2279–2290. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60283-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60283-9).

Taylor, R. *et al.* (2018) 'Remission of Human Type 2 Diabetes Requires Decrease in Liver and Pancreas Fat Content but Is Dependent upon Capacity for β Cell Recovery', *Cell Metabolism*, 28(4), pp. 547-556.e3. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.07.003>.

Taylor, R. *et al.* (2023) 'Aetiology of Type 2 diabetes in people with a “normal” body mass index: testing the personal fat threshold hypothesis', *Clinical Science (London, England: 1979)*, 137(16), pp. 1333–1346. Available at: <https://doi.org/10.1042/CS20230586>.

Taylor, R. (2024) 'Understanding the cause of type 2 diabetes', *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 0(0). Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(24\)00157-8](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(24)00157-8).

Tchernof, A. and Després, J.-P. (2013) 'Pathophysiology of human visceral obesity: an update', *Physiological Reviews*, 93(1), pp. 359–404. Available at: <https://doi.org/10.1152/physrev.00033.2011>.

The Diabetes Prevention Program Research Group (2005) 'Role of Insulin Secretion and Sensitivity in the Evolution of Type 2 Diabetes in the Diabetes Prevention Program : Effects of Lifestyle Intervention and Metformin', *Diabetes*, 54(8), pp. 2404–2414. Available at: <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.8.2404>.

Tobias, D.K. *et al.* (2023) 'Second international consensus report on gaps and opportunities for the clinical translation of precision diabetes medicine', *Nature Medicine*, 29(10), pp. 2438–2457. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02502-5>.

Tuomilehto, J. *et al.* (2001) 'Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance', *New England Journal of Medicine*, 344(18), pp. 1343–1350. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJM200105033441801>.

Tura, A., Kautzky-Willer, A. and Pacini, G. (2006) 'Insulinogenic indices from insulin and C-peptide: comparison of beta-cell function from OGTT and IVGTT', *Diabetes Research and Clinical Practice*, 72(3), pp. 298–301. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2005.10.005>.

Van Buuren, S. and Oudshoorn, C.G. (2000) 'Multivariate imputation by chained equations'. Leiden: TNO.

Van Gaal, L.F., Mertens, I.L. and De Block, C.E. (2006) 'Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease', *Nature*, 444(7121), pp. 875–880. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature05487>.

de Vegt, F. *et al.* (2000) 'Similar 9-year mortality risks and reproducibility for the World Health Organization and American Diabetes Association glucose tolerance categories: the Hoorn Study.', *Diabetes Care*, 23(1), pp. 40–44. Available at: <https://doi.org/10.2337/diacare.23.1.40>.

Vollset, S.E. *et al.* (2024) 'Burden of disease scenarios for 204 countries and territories, 2022–2050: a forecasting analysis for the Global Burden of Disease Study 2021', *The Lancet*, 403(10440), pp. 2204–2256. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)00685-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)00685-8).

Wagner, R. *et al.* (2021) 'Pathophysiology-based subphenotyping of individuals at elevated risk for type 2 diabetes', *Nature Medicine*, 27(1), pp. 49–57. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1116-9>.

Wagner, R. *et al.* (2022) 'Lower Hepatic Fat Is Associated With Improved Insulin Secretion in a High-Risk Prediabetes Subphenotype During Lifestyle Intervention', *Diabetes*, 72(3), pp. 362–366. Available at: <https://doi.org/10.2337/db22-0441>.

Weisberg, S.P. *et al.* (2003) 'Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue', *The Journal of Clinical Investigation*, 112(12), pp. 1796–1808. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI19246>.

Weyer, C. *et al.* (1999) 'The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus', *The Journal of Clinical Investigation*, 104(6), pp. 787–794. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI7231>.

World Health Organization and International Diabetes Federation (2006) 'Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia : report of a WHO/IDF consultation'. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43588> (Accessed: 16 November 2021).

Xin, Y. *et al.* (2019) 'Type 2 diabetes remission: economic evaluation of the DiRECT/Counterweight-Plus weight management programme within a primary care randomized controlled trial', *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 36(8), pp. 1003–1012. Available at: <https://doi.org/10.1111/dme.13981>.

Zhou, X. *et al.* (2020) 'Cost-effectiveness of Diabetes Prevention Interventions Targeting High-risk Individuals and Whole Populations: A Systematic Review', *Diabetes Care*, 43(7), pp. 1593–1616. Available at: <https://doi.org/10.2337/dci20-0018>.

Zhyzhneuskaya, S.V. *et al.* (2020) 'Time Course of Normalization of Functional β -Cell Capacity in the Diabetes Remission Clinical Trial After Weight Loss in Type 2 Diabetes', *Diabetes Care*, 43(4), pp. 813–820. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc19-0371>.