

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin  
der Deutschen Sporthochschule Köln  
Abteilung für Präventive und Rehabilitative Sport- und Leistungsmedizin  
Leiter: Universitätsprofessor Dr. med. H.- G. Predel

# **Evidence for Training-Induced Changes in miRNA Levels in the Skeletal Muscle of Patients With Type 2 Diabetes Mellitus**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der ärztlichen Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Sarah Brinkmann, ehemals Simaitis,  
aus Neuss, Deutschland  
promoviert am 07. November 2024

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2025

Dekanin/Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G.R. Fink

1. Gutachterin: Professorin Dr. rer. nat. K. Brixius
2. Gutachter: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. D. Pesta

## Erklärung

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

PD Dr. Dr. Thorsten Schiffer  
TA Anika Voss

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Muskelbiopsien wurden bereits für eine vorherige Studie entnommen (durch PD Dr. Dr. Thorsten Schiffer) und im Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin zur Verfügung gestellt. Die laborchemischen Analysen wurden im Labor des Instituts für Kreislaufforschung und Sportmedizin von der medizinisch technischen Assistentin Frau Anika Voss durchgeführt. Die Literaturanalyse in Pubmed zur Identifizierung von microRNAs mit potenziell regulatorischer Wirkung bei Diabetes mellitus Typ II wurde von mir selbst durchgeführt. Ebenso wurden die für die Studie laborchemisch zu analysierenden miRNAs von mir festgelegt. Darauf folgend wurde die zur Analyse notwendige PCR Platte von mir erstellt. Nach laborchemischer Bearbeitung habe ich die statistische Analyse mittels SPSS selbstständig durchgeführt. Die graphische Darstellung im Rahmen der statistischen Auswertung stammt von mir. Die Konzeption sowie Verfassung des gesamten Original-Artikels wurde von mir selbstständig ausgeführt.

## Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis:

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 15.10.2023

## **Danksagung**

Die vorliegende Promotionsarbeit wurde am Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule in Köln erstellt.

Zunächst möchte ich meiner Doktormutter Frau Professorin Klara Brixius für die Vergabe dieses interessanten Themas sowie Ihrem professionellen Feedback danken. Ich habe mich stets sehr gut von Ihnen betreut gefühlt.

Außerdem danke ich meiner ganzen Familie für Ihre Unterstützung. Ich danke besonders auch meinen Eltern, dass sie mir mein Medizinstudium möglich gemacht haben und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stehen.

Für Uroma Adele

# Inhaltsverzeichnis

<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>7</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>9</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>10</b>
2.1. Diabetes mellitus (DM) Typ II	10
2.2. Körperliche Aktivität bei DM Typ II	10
2.3. MiRNAs als Regulatoren der Insulinsensitivität bei DM Typ II	10
2.4. Einfluss von Ausdauertraining auf miRNAs bei DM Typ II	10
2.5. Fragestellung und Ziel der Arbeit	11
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>12</b>
3.1. Study Design	12
3.2. Subjects	13
3.3. Training Intervention	14
3.4. Physical Performance Diagnostics	14
3.5. Blood Analysis	15
3.6. Muscle Biopsy Procedure	15
3.7. Selection of miRNAs	15
3.8. MiRNA Isolation and Quantification	15
3.9. Sample Size	16
3.10. Statistical Analyses	16
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>17</b>
4.1. Effects of the Training on the Patients` Physical Fitness and Blood Variables	17
4.2. Effects of the Training on the Patients` miRNA Levels	17
4.3. Associations between miRNA Levels, Glycemic Control/ Insulin Sensitivity and Physical Fitness among the Patients	19

<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>21</b>
5.1.	Einfluss körperliche Aktivität auf miRNA Level und Zusammenhang mit kardiorespiratorischer Fitness	21
5.2.	Zusammenhang miRNAs und glykämische Kontrolle	21
5.3.	Eine miRNA...unzählige Targets	22
5.4.	Schlussfolgerung	23
<b>6.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>24</b>
<b>7.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>28</b>
7.1.	Abbildungsverzeichnis	28
7.2.	Tabellenverzeichnis	28
<b>8.</b>	<b>VORABVERÖFFENTLICHUNGEN VON ERGEBNISSEN</b>	<b>29</b>

## Abkürzungsverzeichnis

### Abkürzungsverzeichnis aus dem Original-Artikel (siehe hier **Material & Methods** sowie **Results**)

ANOVA.....	analysis of variance
BMI.....	body mass index
HbA1c.....	hemoglobin A1c
HDL.....	high density lipoprotein
HOMA index.....	homeostasis model assessment index
HOMA-IR index.....	homeostasis model assessment for insulin resistance index
HRpeak.....	peak heart rate
IRS.....	insulin receptor substrate
LDL.....	low density lipoprotein
mRNA.....	messenger RNA
miRNA.....	microRNA
SD.....	standard variation
T2DM.....	type 2 diabetes mellitus
PCR.....	polymerase chain reaction
RT-PCR.....	realtime polymerase chain reaction
VO <sub>2peak</sub> .....	volume oxygen peak



**Abkürzungsverzeichnis aus dem deutschen Text (siehe hier Zusammenfassung, Einleitung sowie Diskussion)**

AKT2.....	Serin/ Threonin Kinase 2
ANOVA.....	Varianzanalyse ( <i>Englisch: analysis of variance</i> )
DM.....	Diabetes mellitus
DM Typ II.....	Diabetes mellitus Typ II
HbA1c.....	Glykiertes Hämoglobin
HDL.....	High density Lipoprotein
HOMA- Index.....	Homeostasis model assessment Index
IDF.....	International Diabetes Federation
LDL.....	Low density Lipoprotein
miRDB.....	microRNA Target Prediction Database
miRNA.....	microRNA
OGTT.....	Oraler Glukosetoleranztest
PCR.....	Polymerasekettenreaktion ( <i>Englisch: polymerase chain reaction</i> )
PIK3R1.....	Phosphoinositide-3-Kinase Regulatorische Untereinheit 1
VO <sub>2 max</sub> .....	Maximale Sauerstoffaufnahme; als Synonym für kardiorespiratorische Fitness

## 1. Zusammenfassung

Durch körperliche Aktivität kann bei PatientInnen mit Diabetes mellitus Typ II (DM Typ II) die glykämische Kontrolle positiv beeinflusst werden. Die dieser Verbesserung zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sind jedoch noch nicht vollständig erforscht. MicroRNAs (miRNAs), bekannt als wichtige Regulatoren der Proteinexpression, könnten hier einen neuen Ansatzpunkt darstellen. Einige miRNAs wurden bereits sowohl mit einer reduzierten glykämischen Kontrolle (nachgewiesen bei *in vivo* und/ oder *in vitro* Studien) als auch mit einer veränderten Regulation in der Skelettmuskulatur bei DM Typ II PatientInnen in Zusammenhang gebracht. In der nachfolgenden Pilotstudie wurde untersucht, ob durch körperliche Aktivität (dreimonatiges Ausdauertraining, drei Mal pro Woche bei einer Herzfrequenz von 70-80% der maximalen Herzfrequenz) bei männlichen DM Typ II Patienten ( $n=7$ ) diese muskulären miRNAs eine Veränderung in ihrer Menge erfahren. Den Patienten wurde eine Muskelbiopsie aus dem Musculus vastus lateralis zu drei verschiedenen Zeitpunkten entnommen (T1= sechs Wochen vor Trainingsbeginn; T2= eine Woche vor Trainingsbeginn, T3= drei bis vier Tage nach der Trainingsphase). Mittels Echtzeit-PCR wurden die Level von miRNA-27a-3p, -29a-3p, -29b-3p, -29c-3p, -106b-5p, -135a-5p, -143-3p, -144-3p, -194-5p und -206 analysiert. Nach statistischer Analyse durch Friedman Test mit Post-hoc-Tests zeigten die Ergebnisse, dass die Level von miRNA-29b-3p, -29c-3p und -135a-5p nach dem Training signifikant reduziert waren (T3 gegenüber T2 und/ oder T1). Beim glykierten Hämoglobin (HbA1c) sowie dem HOMA Index kam es zu keinen signifikanten Veränderungen, jedoch zeigte sich nach dem Training eine Reduktion des HbA1c Wertes bei sechs von sieben Patienten. Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman zeigte signifikante negative Korrelationen zwischen den Leveln von miRNA-29c-3p, -106b-5p, -144-3p und -194-5p und der kardiorespiratorischen Fitness ( $VO_{2peak}$ ). Die Ergebnisse implizieren, dass körperliche Aktivität einen Effekt auf die Regulation der miRNAs im Skelettmuskel bei DM Typ II Patienten haben kann. Inwiefern hierdurch auch eine tatsächliche Veränderung der klinischen Situation bei DM Typ II Patienten erzielt werden kann, erfordert weitere Forschung.

## **2. Einleitung**

### **2.1. Diabetes mellitus Typ II**

Diabetes mellitus (DM) ist eine globale Gesundheitsbedrohung von der weltweit 573 Millionen Menschen betroffen sind (10,5% der Bevölkerung). Bis 2023 wird eine Steigerung auf 643 Millionen (11,2%) und bis 2045 gar auf 783 Millionen (12,2%) erwartet. Gut 90% leiden unter Diabetes mellitus Typ II (DM Typ II) (IDF Atlas). Diabetes mellitus Typ II (DM Typ II) ist eine chronische Erkrankung, die mit einer reduzierten Insulinsensitivität in peripheren Geweben einhergeht. Insbesondere Muskelzellen spielen hierbei eine wichtige Rolle, da sich die postprandiale Insulin- induzierte Glukoseaufnahme hier auf 80-90% beläuft (De Fronzo et al. 1985; Tseng et al. 2010).

### **2.2. Körperliche Aktivität bei DM Typ II**

Regelmäßige körperliche Aktivität spielt eine Schlüsselrolle in der Behandlung von DM Typ II PatientInnen. Es konnte bereits gezeigt werden, dass durch körperliches Training eine Verbesserung der glykämischen Kontrolle erzielt werden kann (Chudyk and Petrella, 2011). Die hier zugrunde liegenden molekularen Mechanismen sind jedoch noch nicht vollständig geklärt.

### **2.3. MiRNAs als Regulatoren der Insulinsensitivität bei DM Typ II**

In einigen Studien konnte nachgewiesen werden, dass microRNAs (miRNAs) in einem direkten Zusammenhang mit der Regulation der Insulinsensitivität in peripheren Geweben stehen (Mohamed et al, 2014; Bork- Jensen et al. 2015; Dahlmans et al. 2016) . Insgesamt wurden bisher 1800 menschliche miRNAs gefunden, die Einfluss auf 30% aller Gene ausüben (Esau et al. 2006; He et al. 2007; Takanabe et. al. 2008). MiRNAs sind wichtige Regulatoren der Proteinexpression. Sie werden im peripheren Gewebe exprimiert, können systemisch zirkulieren und auch Einfluss auf andere Zielgewebe ausüben, die sie erreichen („cross-talk“) (Krutzfeld and Stoffel, 2006). MiRNAs sind nicht kodierende RNAs, die viele zelluläre Prozesse auf post- transkriptioneller Ebene durch Basenpaarung mit messenger RNAs (mRNAs) regulieren (Bartel, 2004, 2009).

### **2.4. Einfluss von Ausdauertraining auf muskuläre miRNAs bei DM Typ II**

Die vorliegende Studie untersucht den Effekt von regelmäßiger körperlicher Belastung (Ausdauertraining) auf die Level von miRNA -27a-3p, -29a-3p, -29b-3p, -29c-3p, -106b-5p, -135a-5p, -143-3p, -144-3p, -194-5p und -206. Diese korrelieren alle negativ mit der glykämischen Kontrolle und sind in den Muskeln von DM Typ II PatientInnen dysreguliert, wie vorherige Studien gezeigt haben (Gallagher et al., 2010; Jordan et al., 2011; Karolina

et al., 2011; Zhang et al., 2013, 2017; Latouche et al., 2016; Zhou et al., 2016; Dahlmans et al., 2017).

## **2.5. Fragestellungen und Ziel der Arbeit**

### **Primäre Fragestellung:**

Welchen Einfluss hat ein moderat- intensives Ausdauertraining auf die muskulären miRNA Level, die in Zusammenhang mit der Insulinsensitivität/ glykämischen Kontrolle bei DM Typ II-Patienten stehen?

### **Sekundäre Fragestellungen:**

Wie wirkt sich ein moderat- intensives Ausdauertraining auf die kardiorespiratorische Fitness (gemessen als: VO2 max) der DM Typ II Patienten aus?

Wie wirkt sich das Training auf die Insulinsensitivität/ glykämische Kontrolle (gemessen als HOMA Index und HbA1c) der DM Typ II Patienten aus?

Welchen Einfluss hat das Training auf das Lipidprofil (gemessen als Triglyceride, Cholesterin, HDL, LDL) bei den Patienten?

Besteht ein Zusammenhang zwischen den muskulären miRNA Leveln, der Insulinsensitivität/ glykämischen Kontrolle und der körperlichen Fitness der Patienten?

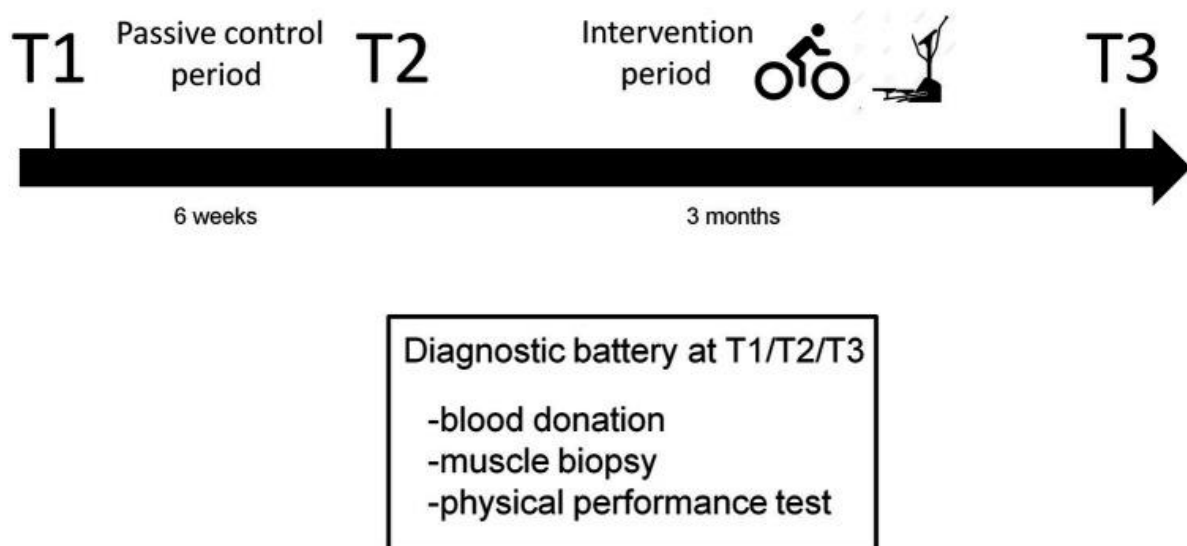
### **Ziel der Arbeit:**

Ziel der Arbeit ist es, herauszufinden, ob körperliche Aktivität (hier: Ausdauertraining) einen Einfluss auf die Level muskulärer miRNAs bei DM Typ II PatientInnen hat. Es werden miRNAs analysiert, deren Einfluss auf die Insulinsensitivität/ glykämischen Kontrolle bereits nachgewiesen wurde und die bei DM Typ II PatientInnen dysreguliert sind. Die Studie leistet damit einen Beitrag zur Erforschung trainingsadaptierter molekularer Adaptationen, die bei der Bekämpfung von DM Typ II eine Rolle spielen.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Study Design

Muscle biopsy samples from a previously conducted study were used for the miRNA analyses. The study has been approved by the Ethics Committee of the German Sport University Cologne. The study is registered in the German Clinical Trials Register (DRKS, clinical trial registration number: DRKS00022052). The protocol conformed to the provisions of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all subjects. The study has already been described in other papers of the working group (Brinkmann et al., 2017a,b, 2019). The study design is shown in **Figure 1**. Subjects underwent a medical check-up before participating in the study. A non-conventional study design was used for the study due to ethical reasons. The subjects' data were analyzed 6 weeks pre-intervention (T1), 1 week pre-intervention (T2) and 3–4 days post-intervention (T3). The time period from T1 to T2 was used as a control period to detect possible time-dependent variations in the measured variables without the impact of physical training. In contrast to a conventional two-group design with a passive control group, this study design does not require the involvement of subjects who are inactive for the full duration of the study and who cannot improve their health by participating in the study. At T1, T2 and T3, venous blood was collected from the patients after a 12-h overnight fast and before medication intake in the early morning. Thereafter, a muscle sample was obtained from the M. vastus lateralis. A few days later, an endurance performance test was applied.



**Figure 1:** Study design

### 3.2. Subjects

All patients were recruited *via* a newspaper advertisement. Seven overweight/obese [body mass index (BMI):  $31.2 \pm 2.1 \text{ kg/m}^2$ ] and untrained (no regular exercise during the last 3 years) T2DM men (age:  $61 \pm 10$  years) without insulin treatment participated in the study (**Table 1**). The duration of T2DM was  $5 \pm 7$  years. All subjects were free of severe diabetic complications (e.g., nephropathy, neuropathy, and retinopathy) and/or any other severe cardiovascular diseases. Four patients had well-controlled arterial hypertension. Five of the patients took anti-diabetic drugs, four took anti-hypertensive drugs, two took anti-hyperlipidemic/anti-hypercholesterolemia drugs, and four took other drugs (anti-hypothyroidism-drugs, anti-allergic drugs, anti-platelet drugs).

**Table 1:** Patients' fitness data and results from blood analysis.

Variable	T1 (6 weeks pre-training)	T2 (1 week pre- training)	T3 (post- training)	Overall significance: <i>p</i> -value	T1- T2: <i>p</i> - value	T2- T3: <i>p</i> - value	T1- T3: <i>p</i> - value
WHO test: maximal workload [W] ( <i>n</i> = 6)	133 $\pm 34$	129 $\pm 19$	175 $\pm 27$	<b>0.006</b>	1.000	0.018	0.042
VO <sub>2peak</sub> [ml/min/kg] ( <i>n</i> = 6)	23.99 $\pm 3.21$	25.10 $\pm 2.78$	29.32 $\pm 4.85$	<b>0.042</b>	1.000	0.130	0.063
Plasma glycated hemoglobin (HbA1c) [%]	7.4 $\pm 1.8$	7.45 $\pm 2.2$	6.6 $\pm 0.3$	0.158	/	/	/
Homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) index	7.3 $\pm 3.1$	6.9 $\pm 4.2$	6.6 $\pm 3.8$	0.565	/	/	/
Body mass index [kg/m <sup>2</sup> ]	31.17 $\pm 2.07$	30.83 $\pm 2.21$	30.94 $\pm 2.87$	0.368	/	/	/

Variable	T1 (6 weeks pre-training)	T2 (1 week pre- training)	T3 (post- training)	Overall significance: <i>p</i> -value	T1- T2: <i>p</i> - value	T2- T3: <i>p</i> - value	T1- T3: <i>p</i> - value
Serum fasting triglycerides [mg/dl]	198 ± 54	207 ± 49	200 ± 55	0.895	/	/	/
Serum fasting total cholesterol [mg/dl]	216 ± 47	224 ± 39	222 ± 40	0.156	/	/	/
Serum fasting low- density lipoprotein (LDL) [mg/dl]	151 ± 43	157 ± 32	133 ± 38	<b>0.018</b>	1.000	0.023	0.098
Serum fasting high-density lipoprotein (HDL) [mg/dl]	48 ± 8	50 ± 6	48 ± 5	0.565	/	/	/

Values are means ± SD. Bold values indicate significance.

### 3.3. Training Intervention

Endurance training (cycling or exercising on an elliptical crosstrainer) was performed three times a week on non-consecutive days for 3 months. The training intensity was ~70–80% of the subject's peak heart rate based on the endurance performance test conducted prior to the training period. The training was supervised by professional sports coaches. The time of the training bouts was gradually increased in the first 7 weeks from 20 to 50 min. In weeks 8–12, the duration was held constant. A 5-min warm-up and a 5-min cool-down were performed during each training session.

### 3.4. Physical Performance Diagnostics

A symptom-limited cycling step test (WHO, 1968) was performed using the World Health Organization protocol (25 + 25 W every 2 min). In case of muscular exhaustion, angina pectoris, ischemia, paleness, cyanosis, arrhythmia, respiratory insufficiency, hypertension (systolic blood pressure > 250 mmHg or diastolic blood pressure > 115 mmHg), aberration, dizziness and/or coordination problems, the test was stopped. Spirometric measurements were carried out using the "ZAN 600 USB" system (nSpire Health, Longmont, Colorado,

United States). The highest O<sub>2</sub> consumption measured during exercise (60 s average value) was defined as peak oxygen uptake (VO<sub>2peak</sub>).

### **3.5. Blood Analysis**

Glucose, triglycerides, total cholesterol and lipoprotein levels were determined using the Cobas Mira analyzer (Hoffmann La Roche AG, Basel, Switzerland). Insulin and glycated hemoglobin (HbA1c) levels were determined in an external laboratory (Labor Dr. Wisplinghoff, Cologne, Germany). The homeostatic model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) index was calculated as follows: (insulin [ $\mu$ U/ml] \* glucose [mg/dl])/405.

### **3.6. Muscle Biopsy Procedure**

Skeletal muscle tissue was obtained from the M. vastus lateralis of the T2DM men by a needle biopsy (Evans et al., 1982). The muscle tissue sample was immediately placed in cryotubes, frozen in liquid nitrogen and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until further analysis.

### **3.7. Selection of miRNAs**

Micro-RNAs were selected through a literature search in PubMed. miRNAs that were found to be linked to insulin resistance/poor glycemic control (with evidence from *in vivo* or experimental *in vitro* cell model studies) and dysregulated in the skeletal muscle of T2DM patients (up-regulated or down-regulated) were selected for further analyses.

### **3.8. miRNA Isolation and Quantification**

miRNA isolation and profiling were performed similarly to the protocol used in the paper of Dahlmans et al. (2017). Total RNAs were extracted from muscle samples using the miRNeasy Mini kit (Qiagen, Hilden, Germany). cDNAs were then synthesized using the miRCURY LNA RT Kit (Qiagen). The premix of cDNAs, miRCURY LNA SYBR Green PCR Master Mix (Qiagen) and RNase-Free Water (Qiagen) was then added to pre-designed 96-well Pick & Mix-miRCURY LNA miRNA Custom PCR Panels (Qiagen), according to the manufacturer's guidelines. Finally, cDNAs were amplified using the "Stratagene Mx3005P" PCR system (Agilent Technologie, Santa Clara, California, United States). All samples were analyzed in duplicate. The x-fold change in the expression of a miRNA was calculated using the  $2^{-\Delta\Delta\text{ct}}$  – method (Livak and Schmittgen, 2001). In repeated measurements, the values reflect changes from the baseline value (T1 values were set 1 = 100%). In correlation analyses, the values reflect the x-fold level of a miRNA in relation to the mean level of that miRNA in all subjects (the mean value was set 1 = 100%). Data of each sample were normalized to the mean of the expression values of miRNA-423-3p, SNORD48 and U6 snRNA.



### **3.9. Sample Size**

Because of the pilot nature of this study, a formal sample size calculation *a priori* based on the results of other studies was not performed. Biopsy samples from a former study have been used for analyses. Their number was limited. It is important to note that the participation rate in muscle biopsy studies is usually low due to possible experience of pain during the biopsy procedure and, in particular, when more than one biopsy is performed (as in the present study: three biopsies per person).

### **3.10. Statistical Analyses**

Data are presented as mean values  $\pm$  standard deviations (SD). The “SPSS” program (v. 24.0, SPSS Incorporation, Chicago, Illinois, United States) was used for statistical analyses. Non-parametric (rank-based) hypotheses tests were performed throughout, as normality of continuous data distributions seemed to be questionable (skewness, outliers). The Friedman analysis of variance (ANOVA) was used for repeated measurements (T1-T2-T3). If found statistically significant, implemented post-hoc tests for pairwise comparisons were conducted (values of  $p$  were corrected for multiple testing with the Bonferroni correction method). In addition, Spearman’s correlation analysis was used to study the relationship between two variables. If found statistically significant, Spearman’s rank correlation coefficient  $\rho$  was calculated. Significance was considered at  $p \leq 0.05$ .

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Effects of the Training on the Patients' Physical Fitness and Blood Variables

The T2DM patients' endurance capacity (maximal workload during the WHO step test) improved significantly from pre- to post-training (T3 vs. T1 and T2; **Table 1**). The Friedman ANOVA also revealed an overall statistical significance for peak oxygen uptake ( $VO_{2peak}$ ), while post-hoc tests failed significance. One patient did not take part in the physical fitness diagnostics at T1 due to an acute infection. Glycemic control (glycated hemoglobin: HbA1c) and HOMA-IR index did not change significantly over time. However, it might be important to note that the HbA1c value was reduced in six of the seven patients at T3 vs. T2. Low-density lipoprotein (LDL) was reduced significantly from pre- to post-training (T3 vs. T2). However, post-hoc tests did not indicate significance for T3 vs. T1. There were no significant changes in BMI, triglycerides, total cholesterol or high-density lipoprotein (HDL) levels.

### 4.2. Effects of the Training on the Patients' miRNA Levels

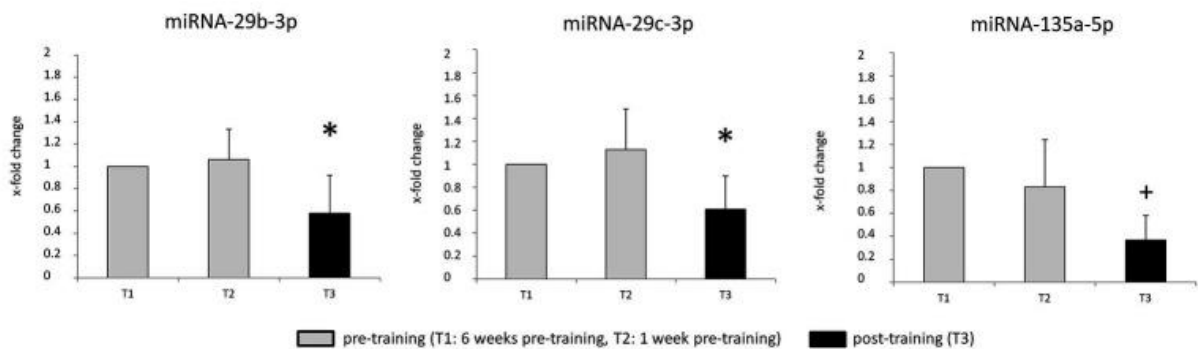
Friedman ANOVA and post-hoc-tests revealed that miRNA-29b-3p and miRNA-29c-3p levels were significantly reduced at T3 vs. T2 and T1 (miRNA-29b-3p: T3 vs. T2: -45%, T3 vs. T1: -42%; miRNA-29c-3p: T3 vs. T2: -46%, T3 vs. T1: -39%). The levels of miRNA-135a-5p were significantly reduced at T3 vs. T1 (-63%), but not vs. T2 (**Table 2 and Figure 2**). Levels of miRNAs-27a-3p, -29a-3p, -106b-5p, -143-3p, -144-3p, -194-5p, and -206 did not change as a result of the training.

**Table 2:** Skeletal muscle miRNA levels [relative expression of each miRNA: x-fold change to the baseline value (T1)] in the T2DM patients pre- and post-training.

miRNA	T1 (6 weeks pre- training)	T2 (1 week pre- training)	T3 (post- training)	Overall significance: <i>p</i> -value	T1- T2: <i>p</i> - value	T2- T3: <i>p</i> - value	T1- T3: <i>p</i> - value
miRNA-27a-3p	1.00 ± 0.00	1.39 ± 0.39	1.27 ± 1.11	0.156	/	/	/
miRNA-29a-3p	1.00 ± 0.00	1.11 ± 0.34	0.63 ± 0.33	0.066	/	/	/

miRNA	T1 (6 weeks pre- training)	T2 (1 week pre- training)	T3 (post- training)	Overall significance: <i>p</i> -value	T1- T2: <i>p</i> - value	T2- T3: <i>p</i> - value	T1- T3: <i>p</i> - value
miRNA-29b-3p	1.00 ± 0.00	1.06 ± 0.28	0.58 ± 0.34	<b>0.005</b>	1.000	0.023	0.010
miRNA-29c-3p	1.00 ± 0.00	1.13 ± 0.36	0.61 ± 0.29	<b>0.004</b>	1.000	0.004	0.048
miRNA-106b- 5p	1.00 ± 0.00	2.49 ± 3.63	1.12 ± 1.50	0.066	/	/	/
miRNA-135a- 5p ( <i>n</i> = 5)	1.00 ± 0.00	0.83 ± 0.41	0.37 ± 0.22	<b>0.015</b>	1.000	0.173	0.013
miRNA-143-3p	1.00 ± 0.00	1.40 ± 0.85	3.55 ± 7.02	0.651	/	/	/
miRNA-144-3p	1.00 ± 0.00	5.91 ± 12.31	1.74 ± 3.27	0.156	/	/	/
miRNA-194-5p	1.00 ± 0.00	1.66 ± 1.53	1.15 ± 1.17	0.156	/	/	/
miRNA-206	1.00 ± 0.00	1.39 ± 0.63	1.21 ± 1.17	0.867	/	/	/

Values are means ± SD. Bold values indicate significance.



**Figure 2:** Skeletal muscle miRNA levels in the type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients pre- and post-training. Values are means ± SD. \*Significantly different from T2 and T1. +Significantly different from T1.

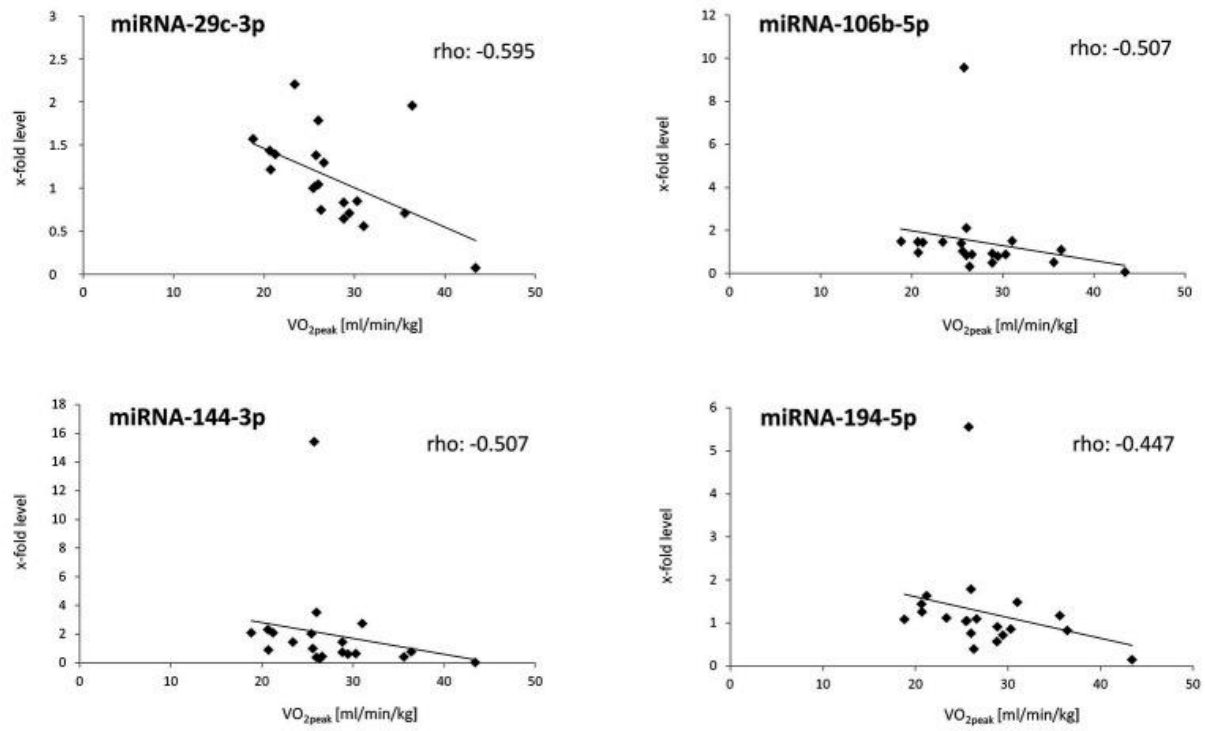
### 4.3. Associations Between miRNA Levels, Glycemic Control/Insulin Sensitivity and Physical Fitness Among the Patients

Spearman's rank correlation analyses were performed with all values from all time points (T1, T2, and T3 miRNA values with the respective corresponding HbA1c, HOMA-IR index or  $VO_{2peak}$  values). Analyses showed no significant associations between the miRNA levels and HbA1c values or HOMA-IR index values, while significant negative associations between the levels of miRNA-29c-3p, miRNA-106-5p, and miRNA-144-3p or of miRNA-194-5p and  $VO_{2peak}$  values (determined during the WHO step test) were found (**Table 3** and **Figure 3**). Significant rank-based correlations were not observed for the levels of miRNAs-27a-3p, -29a-3p, -29b-3p, -135a-5p, -143-3p, or -206 with  $VO_{2peak}$  values.

**Table 3:** Rank correlations between miRNA levels and cardiovascular fitness in the T2DM patients

miRNA	$VO_{2peak}$	
	Significance: <i>p</i> -value	Correlation coefficient rho
miRNA-27a-3p	0.086	/
miRNA-29a-3p	0.062	/
miRNA-29b-3p	0.339	/
miRNA-29c-3p	<b>0.006</b>	-0.595
miRNA-106b-5p	<b>0.023</b>	-0.507
miRNA-135a-5p ( <i>n</i> = 19)	0.576	/
miRNA-143-3p	0.930	/
miRNA-144-3p	<b>0.023</b>	-0.507
miRNA-194-5p	<b>0.048</b>	-0.447
miRNA-206	0.454	/

Bold values indicate significance



**Figure 3:** Significant rank-based correlations between miRNA levels and cardiovascular fitness (VO<sub>2peak</sub>). Spearman's correlation coefficients and trendlines were calculated.

## **5. Diskussion**

### **5.1. Einfluss körperliche Aktivität auf miRNA Level und Zusammenhang mit kardiorespiratorischer Fitness**

Die Studie zeigt, dass sich regelmäßige körperliche Aktivität (hier moderat-intensives Ausdauertraining) vorteilhaft auf die Regulation einiger muskulärer miRNAs, die, wie andere Studien gezeigt haben, in einer negativen Korrelation mit der glykämischen Kontrolle bei DM Typ II Patienten stehen, auswirkt. So waren die Level von miRNA-29b-3p, miRNA-29c-3p und miRNA-135a-5p in den Muskeln der DM Typ II Patienten nach Training signifikant herunterreguliert.

Die Datenanalyse zeigt des Weiteren, dass bei vier der untersuchten miRNAs - miRNA-29c-3p, -106b-5p, -144-3p und -194-5p - ein signifikanter negativer Zusammenhang mit der kardiorespiratorischen Fitness (gemessen am VO<sub>2</sub> max) besteht.

Diese Ergebnisse können als positiver Einfluss von Sport auf die miRNAs und die Gesundheit von Patienten mit DM Typ II gewertet werden.

Drei der vier miRNAs, die mit der VO<sub>2</sub> max korrelieren (miRNA-106b-5p, -144-3p und -194-5p) änderten sich jedoch in der Studie nicht signifikant durch das Training.

Dies kann durch die Dauer des Trainings erklärt werden. Möglicherweise war diese zu kurz um eine Veränderung im Bereich dieser miRNAs zu bewirken.

Andersherum zeigen die Ergebnisse, dass zwei der untersuchten miRNAs (miRNA-29b-3p und -135a-5p) durch das Training herunterreguliert werden, jedoch in keinem signifikanten Zusammenhang mit der kardiorespiratorischen Fitness stehen. Dies lässt sich möglicherweise am ehesten mit der hohen interindividuellen Variabilität der miRNA Level bei den einzelnen DM Typ II Patienten erklären, bei ähnlichem Fitnesszustand.

Inwieweit andere Trainingsarten die Ergebnisse beeinflussen, bleibt offen. In zukünftigen Studien kann es sicher sinnvoll sein, verschiedene Trainingsarten (Ausdauer- vs. Krafttraining; kombiniertes Ausdauer/ Krafttraining) miteinander zu vergleichen.

### **5.2. Zusammenhang miRNAs und Insulinsensitivität/ glykämische Kontrolle**

Ungeachtet dessen, dass bei den ausgewählten miRNAs ein Einfluss auf den Glukosestoffwechsel in vorherigen Studien angenommen wurde, zeigt die Datenanalyse keine signifikante Korrelation zwischen den miRNAs und der Insulinsensitivität (HOMA-Index) sowie der glykämischen Kontrolle (HbA<sub>1c</sub>). Allerdings muss hier auf die kleine Stichprobe der Studie hingewiesen werden. Möglicherweise ist eine Signifikanz der

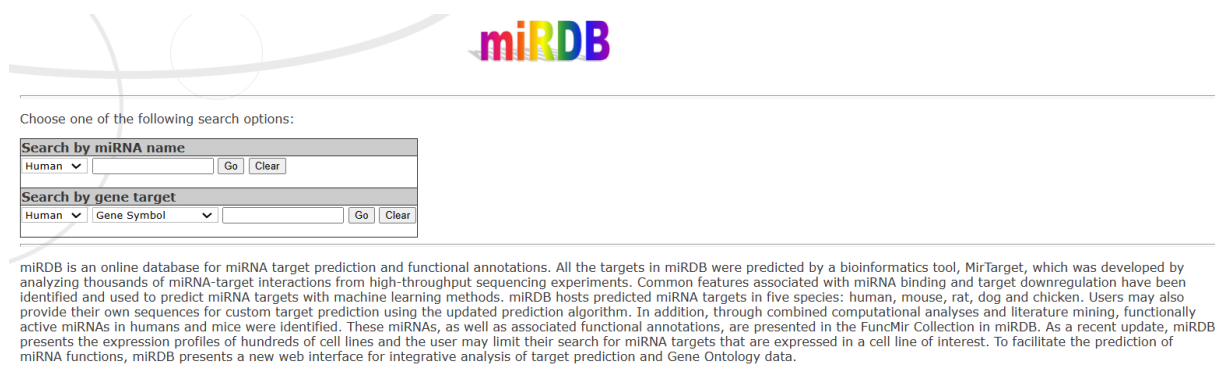
Ergebnisse zu erwarten, sobald ein größeres Probandenkollektiv mit einer größeren Streuweite in den korrelierten Werten eingeschlossen wird.

Die Ergebnisse zeigen allerdings, dass bei sechs der sieben untersuchten Probanden der HbA1c Wert nach dem Training gesunken ist. Ein Einfluss der Regulation der ausgewählten miRNAs auf die glykämische Kontrolle kann daher auf jeden Fall nicht ausgeschlossen werden.

In zukünftigen Studien kann es zusätzlich noch sinnvoll sein, weitere Untersuchungen zur Bestimmung der Insulinsensitivität/glykämischen Kontrolle (bspw. oraler Glukosetoleranztest (OGTT) oder hyperglykämischer Glukose-Clamp-Test) hinzuzufügen.

### 5.3. Eine miRNA...unzählige Targets

Bereits nachgewiesen wurde der Einfluss von miRNAs auf die Expression vieler verschiedener Zielgene (Esau et al. 2006; He et al. 2007; Takanabe et. al. 2008). In der Datenbank miRDB (microRNA Target Prediction Database; <https://mirdb.org>) lassen sich alle bisher erkundeten Ziele der entsprechenden miRNAs finden (mRNAs der aufgeführten Gene).



#### Abbildung 4: Datenbank miRDB

Exemplarisch für miRNA29c-3p, deren Level sich in der vorliegenden Studie nach regelmäßiger körperlicher Aktivität signifikant vermindert haben, zeigten sich 1034 Zielgene, bzw. Gene von Ziel-mRNAs der miRNAs. Dies unterstreicht sehr deutlich, wie weit sich die Wirkungsbreite der miRNAs zu erstrecken vermag.

There are 1034 predicted targets for hsa-miR-29c-3p in miRDB.

Target Detail	Target Rank	Target Score	miRNA Name	Gene Symbol	Gene Description
<a href="#">Details</a>	1	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">COL5A3</a>	collagen type V alpha 3 chain
<a href="#">Details</a>	2	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">COL5A1</a>	collagen type V alpha 1 chain
<a href="#">Details</a>	3	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">TET1</a>	tet methylcytosine dioxygenase 1
<a href="#">Details</a>	4	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">HBP1</a>	HMG-box transcription factor 1
<a href="#">Details</a>	5	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">FBN1</a>	fibrillin 1
<a href="#">Details</a>	6	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">ATAD2B</a>	ATPase family, AAA domain containing 2B
<a href="#">Details</a>	7	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">TET3</a>	tet methylcytosine dioxygenase 3
<a href="#">Details</a>	8	100	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">COL3A1</a>	collagen type III alpha 1 chain
<a href="#">Details</a>	9	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">DOT1L</a>	DOT1 like histone lysine methyltransferase
<a href="#">Details</a>	10	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">COL11A1</a>	collagen type XI alpha 1 chain
<a href="#">Details</a>	11	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">DNMT3A</a>	DNA methyltransferase 3 alpha
<a href="#">Details</a>	12	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">PI15</a>	peptidase inhibitor 15
<a href="#">Details</a>	13	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">BRWD3</a>	bromodomain and WD repeat domain containing 3
<a href="#">Details</a>	14	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">HAS3</a>	hyaluronan synthase 3
<a href="#">Details</a>	15	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">NEXMIF</a>	neurite extension and migration factor
<a href="#">Details</a>	16	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">NSD1</a>	nuclear receptor binding SET domain protein 1
<a href="#">Details</a>	17	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">KMT5C</a>	lysine methyltransferase 5C
<a href="#">Details</a>	18	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">NAV3</a>	neuron navigator 3
<a href="#">Details</a>	19	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">NAV1</a>	neuron navigator 1
<a href="#">Details</a>	20	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">ADAMTS9</a>	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 9
<a href="#">Details</a>	21	99	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">SESTD1</a>	SEC14 and spectrin domain containing 1
<a href="#">Details</a>	22	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">TMEM169</a>	transmembrane protein 169
<a href="#">Details</a>	23	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">COL19A1</a>	collagen type XIX alpha 1 chain
<a href="#">Details</a>	24	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">ADAMTS6</a>	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 6
<a href="#">Details</a>	25	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">SMS</a>	spermine synthase
<a href="#">Details</a>	26	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">NAV2</a>	neuron navigator 2
<a href="#">Details</a>	27	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">ERCC6</a>	ERCC excision repair 6, chromatin remodeling factor
<a href="#">Details</a>	28	98	hsa-miR-29c-3p	<a href="#">IGF1</a>	insulin like growth factor 1

**Abbildung 5:** Zielgene miRNA 29c-3p

Die Suche hat gezeigt, dass miRNA 29c-3p innerhalb der Insulinkaskade Einfluss auf die Komponenten PIK3R1 (Phosphoinositide-3-Kinase Regulatorische Untereinheit 1) sowie AKT 2 (Serin/ Threonin Kinase 2) ausübt und deren Expression blockieren könnte. Damit liegt die Vermutung nahe, dass durch die Erniedrigung der Level dieser miRNA durch Sport letztlich eine Verbesserung der Insulinsignalkaskade resultiert und mehr Glukose in den Muskel aufgenommen werden kann, wodurch eine Verbesserung der glykämischen Kontrolle möglich wird.

Auf der anderen Seite macht die enorme Wirkungsbreite der miRNAs jedoch auch deutlich, dass bspw. bei einer gezielten medikamentösen Beeinflussung der miRNAs mit enormen Nebenwirkungen gerechnet werden muss. So würde ein Medikament, welches bspw. die o.g. miRNA 29c-3p herunterreguliert, nicht nur auf die Komponenten der Insulinkaskade Einfluss ausüben, sondern auch die weiteren 1032 Targets beeinflussen und damit auf unzählige Körperprozesse- mit ungeahnten Folgen- einwirken.

#### 5.4. Schlussfolgerung

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass regelmäßige körperliche Aktivität (Ausdauertraining) offenbar einen Einfluss auf die Level einiger muskulärer miRNAs bei DM Typ II Patienten hat. Dies zeigt, dass miRNAs möglicherweise zukünftig als neue Regulatoren der glykämischen Kontrolle eine wichtige Rolle bei der weiteren Erforschung der zugrunde liegenden molekularen Adaptationen der Erkrankung DM Typ II spielen könnten.



## 6. Literaturverzeichnis

- 1 Agarwal P, Srivastava R, Srivastava AK, Ali S, Datta M. miR-135a targets IRS2 and regulates insulin signaling and glucose uptake in the diabetic gastrocnemius skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2013; 1832: 1294–303. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.03.021>.
- 2 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281–97. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(04\)00045-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(04)00045-5).
- 3 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215–33. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>.
- 4 Boilard E. Thematic Review Series: Exosomes and Microvesicles: Lipids as Key Components of their Biogenesis and Functions Extracellular vesicles and their content in bioactive lipid mediators: more than a sack of microRNA. *Journal of Lipid Research* 2018; 59: 2037–46. <https://doi.org/10.1194/jlr.r084640>.
- 5 Bork-Jensen J, Scheele C, Christophersen DV, et al. Glucose tolerance is associated with differential expression of microRNAs in skeletal muscle: results from studies of twins with and without type 2 diabetes. *Diabetologia* 2015; 58: 363–73. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3434-2>.
- 6 Brinkmann C, Kuckertz A, Schiffer T, Bloch W, Predel H-G, Brixius K. Endurance training alters YKL40, PERM1, and HSP70 skeletal muscle protein contents in men with type 2 diabetes mellitus. *Endocrine Research* 2018; 44: 1–8. <https://doi.org/10.1080/07435800.2018.1474920>.
- 7 Brinkmann C, Przyklenk A, Metten A, et al. Influence of endurance training on skeletal muscle mitophagy regulatory proteins in type 2 diabetic men. *Endocrine Research* 2017; 42: 325–30. <https://doi.org/10.1080/07435800.2017.1323914>.
- 8 Brinkmann C, Schulte-Körne B, Grau M, et al. Effects of Endurance Training on the Skeletal Muscle Nitric Oxide Metabolism in Insulin-Independent Type 2 Diabetic Men—A Pilot Study. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 2017; 15: 52–58. <https://doi.org/10.1089/met.2016.0092>.
- 9 Chakraborty C, Doss CGP, Bandyopadhyay S, Agoramoorthy G. Influence of <scp>miRNA</scp> in insulin signaling pathway and insulin resistance: micro-molecules with a major role in type-2 diabetes. *WIREs RNA* 2014; 5: 697–712. <https://doi.org/10.1002/wrna.1240>.
- 10 Chudyk A, Petrella RJ. Effects of Exercise on Cardiovascular Risk Factors in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2011; 34: 1228–37. <https://doi.org/10.2337/dc10-1881>.
- 11 Dahlmans D, Houzelle A, Schrauwen P, Hoeks J. Mitochondrial dynamics, quality control and miRNA regulation in skeletal muscle: implications for obesity and related metabolic disease. *Clinical Science* 2016; 130: 843–52. <https://doi.org/10.1042/cs20150780>.
- 12 Dahlmans D, Houzelle A, Jörgensen JA, et al. Evaluation of Muscle microRNA Expression in Relation to Human Peripheral Insulin Sensitivity: A Cross-Sectional Study in Metabolically Distinct Subject Groups. *Frontiers in Physiology* 2017; 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00711>.

- 13 DeFronzo RA, Gunnarsson R, Björkman O, Olsson M, Wahren J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation* 1985; 76: 149–55. <https://doi.org/10.1172/JCI111938>.
- 14 DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal Muscle Insulin Resistance Is the Primary Defect in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32: S157-S163. <https://doi.org/10.2337/dc09-s302>.
- 15 Demirsoy İH, Ertural DY, Balci Ş, et al. Profiles of Circulating miRNAs Following Metformin Treatment in Patients with Type 2 Diabetes. *Journal of Medical Biochemistry* 2018; 37: 499–506. <https://doi.org/10.2478/jomb-2018-0009>.
- 16 Domańska-Senderowska D, Laguette M-J, Jegier A, Ciężczyk P, September A, Brzezińska-Lasota E. MicroRNA Profile and Adaptive Response to Exercise Training: A Review. *International Journal of Sports Medicine* 2019; 40: 227–35. <https://doi.org/10.1055/a-0824-4813>.
- 17 Dooley J, Garcia-Perez JE, Sreenivasan J, et al. The microRNA-29 Family Dictates the Balance Between Homeostatic and Pathological Glucose Handling in Diabetes and Obesity. *Diabetes* 2015; 65: 53–61. <https://doi.org/10.2337/db15-0770>.
- 18 Esau C, Davis S, Murray SF, et al. miR-122 regulation of lipid metabolism revealed by in vivo antisense targeting. *Cell Metabolism* 2006; 3: 87–98. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.01.005>.
- 19 Evans. Suction applied to a muscle biopsy maximizes sample size. *Medicine & Science in Sports and Exercise* 1982; 14: 101.
- 20 Gallagher IJ, Scheele C, Keller P, et al. Integration of microRNA changes in vivo identifies novel molecular features of muscle insulin resistance in type 2 diabetes. *Genome Medicine* 2010; 2: 9. <https://doi.org/10.1186/gm130>.
- 21 Guay C, Regazzi R. Exosomes as new players in metabolic organ cross-talk. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2017; 19: 137–46. <https://doi.org/10.1111/dom.13027>.
- 22 He A, Zhu L, Gupta N, Chang Y, Fang F. Overexpression of micro ribonucleic acid 29, highly up-regulated in diabetic rats, leads to insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Endocrinology* 2007; 21: 2785–94. <https://doi.org/10.1210/me.2007-0167>.
- 23 IDF. IDF DIABETES ATLAS. Brussels, 2021. <https://diabetesatlas.org/> (Zuletzt abgerufen am 01.06.2023)
- 24 Jones A, Danielson KM, Benton MC, et al. miRNA Signatures of Insulin Resistance in Obesity. *Obesity* 2017; 25: 1734–44. <https://doi.org/10.1002/oby.21950>.
- 25 Jordan SD, Krüger M, Willmes DM, et al. Obesity-induced overexpression of miRNA-143 inhibits insulin-stimulated AKT activation and impairs glucose metabolism. *Nature Cell Biology* 2011; 13: 434–46. <https://doi.org/10.1038/ncb2211>.
- 26 Karolina DS, Armugam A, Tavintharan S, et al. MicroRNA 144 Impairs Insulin Signaling by Inhibiting the Expression of Insulin Receptor Substrate 1 in Type 2 Diabetes Mellitus. *PLoS ONE* 2011; 6: e22839. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022839>.
- 27 Krützfeldt J, Stoffel M. MicroRNAs: a new class of regulatory genes affecting metabolism. *Cell Metabolism* 2006; 4: 9–12. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.05.009>.

- 28 Latouche C, Natoli A, Reddy-Luthmoodoo M, Heywood SE, Armitage JA, Kingwell BA. MicroRNA-194 Modulates Glucose Metabolism and Its Skeletal Muscle Expression Is Reduced in Diabetes. *PLoS ONE* 2016; 11: e0155108. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155108>.
- 29 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods* 2001; 25: 402–08. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.
- 30 Massart J, Katayama M, Krook A. microManaging glucose and lipid metabolism in skeletal muscle: Role of microRNAs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* 2016; 1861: 2130–38. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.05.006>.
- 31 Mohamed JS, Hajira A, Pardo PS, Boriek AM. MicroRNA-149 inhibits PARP-2 and promotes mitochondrial biogenesis via SIRT-1/PGC-1 $\alpha$  network in skeletal muscle. *Diabetes* 2014; 63: 1546–59. <https://doi.org/10.2337/db13-1364>.
- 32 microRNA Target Prediction Database; <https://mirdb.org> (Zuletzt abgerufen am 01.06.23)
- 33 Takanabe R, Ono K, Abe Y, et al. Up-regulated expression of microRNA-143 in association with obesity in adipose tissue of mice fed high-fat diet. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2008; 376: 728–32. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.09.050>.
- 34 Tseng Y-H, Cypess AM, Kahn CR. Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. *Nature Reviews. Drug Discovery* 2010; 9: 465–82. <https://doi.org/10.1038/nrd3138>.
- 35 Umpierre D. Physical Activity Advice Only or Structured Exercise Training and Association With HbA<sub>1c</sub> Levels in Type 2 Diabetes. *JAMA* 2011; 305: 1790. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.576>.
- 36 Way KL, Hackett DA, Baker MK, Johnson NA. The Effect of Regular Exercise on Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Diabetes & Metabolism Journal* 2016; 40: 253. <https://doi.org/10.4093/dmj.2016.40.4.253>.
- 37 WHO. Exercise tests in relation to cardiovascular function. Report of a WHO meeting. *World Health Organization Technical Report Series* 1968; 388: 1.
- 38 Yu X, Odenthal M, Fries J. Exosomes as miRNA Carriers: Formation–Function–Future. *International Journal of Molecular Sciences* 2016; 17: 2028. <https://doi.org/10.3390/ijms17122028>.
- 39 Zhang Y, He W, Gao Y-F, Fan Z-M, Gao C-L, Xia Z-K. MicroRNA-106b regulates skeletal muscle insulin sensitivity and glucose homeostasis by targeting mitofusion-2. *Molecular Medicine Reports* 2017; 16: 6858–63. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7439>.
- 40 Zhang B-h, Shen C-a, Zhu B-w, et al. Insight into miRNAs related with glucometabolic disorder. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2019; 111: 657–65. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.123>.
- 41 Zhang Y, Yang L, Gao Y-F, et al. MicroRNA-106b induces mitochondrial dysfunction and insulin resistance in C2C12 myotubes by targeting mitofusin-2. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2013; 381: 230–40. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.08.004>.

- 42 Zhou T, Meng X, Che H, et al. Regulation of Insulin Resistance by Multiple MiRNAs via Targeting the GLUT4 Signalling Pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry* 2016; 38: 2063–78. <https://doi.org/10.1159/000445565>.
- 43 Zhou JY, Xu B, Li L. A New Role for an Old Drug: Metformin Targets MicroRNAs in Treating Diabetes and Cancer. *Drug Development Research* 2015; 76: 263–69. <https://doi.org/10.1002/ddr.21265>.

## 7. Anhang

### 7.1. Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Study design	Seite 12
<b>Abbildung 2:</b> Skeletal muscle miRNA levels in the type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients pre- and post-training	Seite 18
<b>Abbildung 3:</b> Significant rank-based correlations between miRNA levels and cardiovascular fitness ( $VO_{2peak}$ )	Seite 20
<b>Abbildung 4:</b> Datenbank miRDB	Seite 22
<b>Abbildung 5:</b> Zielgene miRNA 29c-3p	Seite 23

### 7.2. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Patients' fitness data and results from blood analysis	Seite 13
<b>Tabelle 2:</b> Skeletal muscle miRNA levels [relative expression of each miRNA	Seite 17
<b>Tabelle 3:</b> Rank correlations between miRNA levels and cardiovascular fitness in the T2DM patients	Seite 19

## 8. Vorabveröffentlichungen von Ergebnissen

**Simaitis S**, Schulte-Körne, B, Schiffer, T, et al. Evidence for Training-Induced Changes in miRNA Levels in the Skeletal Muscle of Patients With Type 2 Diabetes Mellitus.

*Frontiers in Physiology* 2020; 11, *Impact Faktor* 2022: 4,755

<https://doi.org/10.3389/fphys.2020.599651>.