

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Lehrstuhl für Ernährungsmedizin

**Postpartale Entwicklung von Diabetes bei Müttern mit
Gestationsdiabetes sowie Übergewicht bei deren Kindern und die
Rolle des Darm-Mikrobioms**

Michaela Roßbauer

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften

genehmigte Dissertation.

Vorsitzende(r):

Univ.-Prof. Dr. M. Klingenspor

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. J. J. Hauner

2. Univ.-Prof. Dr. A. G. Ziegler

Die Dissertation wurde am 27.05.2014 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum. Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 18.08.2014 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
2. Grundlagen	5
2.1 Pathophysiologie des GDM	5
2.2 Epidemiologie des GDM	6
2.3 Diagnosekriterien des GDM	7
2.4 Postpartale Folgen eines GDM für Mutter und Kind	10
2.4.1 Kurzfristige Folgen eines GDM für Mutter und Kind	11
2.4.2 Langzeitfolgen eines GDM beim Kind	13
2.4.3 Langzeitfolgen eines GDM bei der Mutter	14
2.5 Darm-Mikrobiom	17
3. Studiendesign und Methoden	19
3.1 Prospektive deutsche GDM-Studie	19
3.1.1 Studiendesign	19
3.1.2 Bioproben	21
3.1.3 Soziodemographische und anthropometrische Datenerhebung	22
3.2 POGO-Studie	23
3.2.1 Studiendesign	23
3.2.2 Bioproben	26
3.2.3 Ernährungserhebung	28
3.2.4 Aktivitätserhebung	30
3.2.5 Soziodemographische und anthropometrische Datenerhebung	30
3.2.6 Sonstige Angaben und Messungen	32
3.3 Analytische Methoden	33
3.3.1 Sequenzierung des Darm-Mikrobioms	33
3.3.2 Genotypisierung von diabetes- und gewichtsassozierten SNPs bei Kindern	48
3.4 Statistik	49
3.4.1 Methoden zur Charakterisierung der Kohorten	50
3.4.2 Methoden zur Auswertung der Ernährungsdaten	51
3.4.3 Methoden zur Auswertung der Genotypisierung	51
3.4.4 Methoden zur Auswertung der Mikrobiomdaten	53
4. Ergebnisse	54
4.1 Stillen als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM	54
4.2 Einfluss von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM	59

Inhaltsverzeichnis

4.3	Etablierung der POGO-Kohorte.....	62
4.4	Ernährung zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM	66
4.4.1	Vergleich der Nährstoffaufnahme von Müttern mit vorangegangenem GDM mit den D-A-CH-Referenzwerten	67
4.4.2	Vergleich der Nährstoffaufnahme zwischen Müttern mit vorangegangenem GDM und Frauen der Nationalen Verzehrsstudie II	69
4.4.3	Ernährungsverhalten von Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit des postpartalen T2D-Risikos und des sozioökonomischen Status.....	71
4.5	Darm-Mikrobiom als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Müttern mit vorangegangenem GDM und auf die Entstehung von Übergewicht bei ihren Kindern.....	74
4.5.1	Charakteristika der Kohorte und der Proben	74
4.5.2	Etablierung der Analyse des Darm-Mikrobioms in humanen Faeces-Proben.....	76
4.5.3	Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms und das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM	78
4.5.4	Mutter-Kind-Paare	83
4.5.5	Einfluss des postpartalen T2D-Risikos der Mutter auf das kindliche Mikrobiom	84
5.	Diskussion.....	87
5.1	Stillen als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM.....	88
5.2	Einfluss von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM	91
5.3	Etablierung der POGO-Kohorte.....	94
5.4	Ernährung zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko der Frauen mit vorangegangenem GDM.....	96
5.5	Darm-Mikrobiom als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Müttern mit vorangegangenem GDM und auf die Entstehung von Übergewicht bei ihren Kindern.....	100
6.	Zusammenfassung und Schlussfolgerung	106
7.	Literaturverzeichnis.....	110
8.	Anhang	123
	Abbildungen	123
	Tabellen.....	124
	Studienmaterial	140
	Publikationsverzeichnis.....	163
	Danksagung	165
	Lebenslauf	166

Abbildungsverzeichnis

Abb. 2.1 Prävalenz des GDM in Deutschland	7
Abb. 2.2 Vorgehensweisen zur Diagnose von GDM nach den DDG Leitlinien von 2001	8
Abb. 2.3 Pedersen/Freinkel-Hypothese	12
Abb. 3.1 Schema zum Ablauf der prospektiven deutschen GDM-Studie	21
Abb. 3.2 Flussdiagramm der Mütter, die in die POGO-Studie eingeschlossen wurden.....	25
Abb. 3.3 Flussdiagramm der Index-Kinder der POGO-Studie	25
Abb. 3.4 POGO-Studiendesign	26
Abb. 3.5 Zeitverlauf des OGTT	27
Abb. 3.6 Schematische Darstellung des Ablaufes der 454-Sequenzierung	33
Abb. 3.7 Erstellung einer Amplicon Library.	35
Abb. 3.8 Sequenz einer Amplicon-Library.....	35
Abb. 3.9 Sequenz einer Library mit Multiplex Identifier.	36
Abb. 3.10 Auftrennung der DNA-Banden im UV-Licht nach einer Gelelektrophorese.....	37
Abb. 3.11 Schematischer Ablauf der Aufreinigung der Amplicon Library	38
Abb. 3.12 Quantitätskontrolle der Amplicon Library mittels Bioanalyser	39
Abb. 3.13 DNA Library und Capture-Beads	41
Abb. 3.14 Amplifizierung der Capture-Beads	41
Abb. 3.15 Aufreinigung der Library.....	43
Abb. 3.16 Pyrosequenzierung	45
Abb. 3.17 Sequenzdaten einer Pyrosequenzierung	45
Abb. 3.18 Qualitätsschritte während des Signal Processing.....	46
Abb. 4.1 Flussdiagramm der Mütter, die in die prospektive deutsche GDM-Studie eingeschlossen wurden	55
Abb. 4.2 Kumulatives Risiko für die Entwicklung eines Diabetes pp bei Frauen mit GDM	55

Abb. 4.3 Kumulatives Risiko für die Entwicklung eines Diabetes pp bei Frauen mit vorangegangenem GDM ohne Inselautoantikörper in Abhängigkeit von der Stildauer	57
Abb. 4.4 BMI in Abhängigkeit von der Stildauer am Anfang der Schwangerschaft und zum Zeitpunkt der letzten Nachuntersuchung	59
Abb. 4.5 Effekt von <i>HHEX-IDE</i> -Risikoallelen auf den BMI-SDS bei Kindern von Müttern mit GDM.....	62
Abb. 4.6 Prozentualer Anteil an den D-A-CH-Referenzwerten für die Energie-, Makronährstoff- und Mikronährstoffzufuhr der POGO-Mütter mit GDM.....	68
Abb. 4.8 Vergleich der bakteriellen Diversität der Faeces-Proben zwischen den beiden sequenzierten Platten	78
Abb. 4.9 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms der Mütter der beiden T2D-Risikogruppen.....	80
Abb. 4.10 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms zwischen adipösen und nicht-adipösen Müttern.....	81
Abb. 4.11 Unterschiede im Vorkommen der Firmicutes und Verrucomicrobia bei adipösen Frauen und nicht-adipösen Frauen.	82
Abb. 4.12 A: Vergleich der Bray-Curtis Distanzen zwischen Mutter-Kind-Paaren und allen anderen nicht-verwandten-Paaren	83
Abb. 4.13 Hauptkomponentenanalyse zur Analyse der Similarität des Darm-Mikrobioms bei Mutter-Kind-Paaren	84
Abb. 4.14 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms zwischen Kindern von Müttern der Hoch- und der Niedrigrisikogruppe	85
Abb. 4.15 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms zwischen Kindern von adipösen Müttern und von nicht-adipösen Müttern.....	86
Abb. 8.1 Transportdauer der Faeces-Proben und deren Häufigkeitsverteilung	123

Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1 Blutglukose-Grenzwerte zur Diagnose eines GDM	9
Tab. 2.2 Vergleich neuer und alter Blutglukose-Grenzwerte zur Diagnose von GDM im venösen Plasma.....	10
Tab. 2.3 Mögliche Kurz- und Langzeitfolgen des GDM für Mutter und Kind	11
Tab. 2.4 Risiko für die Entwicklung von T2D oder einer gestörten Glukosetoleranz nach vorangegangenem GDM	15
Tab. 3.1 Charakteristika der Frauen mit GDM der prospektiven deutschen GDM-Studie	20
Tab. 3.2 Charakteristik der Kinder der prospektiven deutschen GDM-Studie, die in die Genotypisierungs-Analyse eingeschlossen wurden.....	21
Tab. 3.3 Score für den sozioökonomischen Schichtindex	31
Tab. 3.4 Variationen verschiedener Parameter der PCR	36
Tab. 3.5 Optimiertes PCR-Programm	37
Tab. 4.1 Multivariate Analyse zum postpartalen T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM	58
Tab. 4.2 Diabetes Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit des Stillverhaltens stratifiziert nach Therapieform in der Schwangerschaft und BMI.....	58
Tab. 4.3 Effekt von T2D-assoziierten SNPs auf den BMI-SDS bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM	60
Tab. 4.4 Effekt von T2D-assoziierten SNPs auf Geburtsgewichtperzentilen, BMI-SDS und Gewichts-SDS bei Kindern von Müttern mit GDM	61
Tab. 4.5 Charakteristika der Mütter mit GDM der POGO-Studienkohorte	64
Tab. 4.6 Die erwartete und beobachtete Verteilung des BMI zu Beginn der GDM- Schwangerschaft	65
Tab. 4.7 Charakteristika aller Index-Kinder des POGO-Kollektives.....	66
Tab. 4.9 Glukosetoleranz bei Müttern mit GDM zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung unterteilt in die beiden T2D-Risikogruppen.....	71
Tab. 4.10 Durchschnittliche tägliche Makronährstoffaufnahme bei Müttern mit	

vorangegangenem GDM unterteilt in die beiden T2D-Risikogruppen.....	72
Tab. 4.11 Einteilung der POGO-Mütter mit GDM nach postpartalem T2D-Risiko und sozioökonomischem Schichtindex.....	73
Tab. 4.12 Durchschnittliche tägliche Makronährstoffaufnahme bei Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit vom sozioökonomischen Schichtindex	73
Tab. 4.13 Charakteristika der 30 Mutter-Kind-Paare die in die Darm-Mikrobiom Analyse eingegangen sind.....	75
Tab. 4.14 Reads pro Probe und Read-Längen bei den zwei gemessenen Platten.....	78
Tab. 4.15 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am Darm-Mikrobiom bei Müttern der Hochrisiko- und der Niedrigrisikogruppe.....	79
Tab. 8.1 D-A-CH-Referenzwerte für die tägliche Energie und Nährstoffaufnahme	124
Tab. 8.2 Vergleich verschiedener Methoden zur DNA-Isolierung aus Faeces Proben.....	125
Tab. 8.3 Bildung des sozioökonomischen Schichtindex der POGO-Mütter mit GDM.....	126
Tab. 8.4 Vergleich der anthropometrischen Daten zwischen GDM-Kindern der POGO-Kohorte und des KiGGS	127
Tab. 8.5 Vergleich der anthropometrischen Daten zwischen Mädchen und Jungen der POGO-GDM-Kohorte.....	127
Tab. 8.6 Vergleich der anthropometrischen Daten zwischen Vorschul- und Schulkindern der POGO-GDM-Kohorte.....	128
Tab. 8.7 Durchschnittliche tägliche Nährstoffaufnahme der POGO-Mütter mit vorangegangenem GDM	129
Tab. 8.8 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme der Mütter mit vorangegangenem GDM der POGO-Studie im prozentualen Vergleich zu den D-A-CH-Referenzwerten	130
Tab. 8.9 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme der Frauen der Nationalen Verzehrsstudie II.....	131
Tab. 8.10 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme bei Müttern mit vorangegangenem GDM als prozentual erreichter Anteil der D-A-CH-Referenzwerte unterteilt nach dem postparalen T2D-Risiko	132

Tab. 8.11 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme bei den Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit vom sozioökonomischen Schichtindex	133
Tab. 8.12 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom Alter	134
Tab. 8.13 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom Geschlecht	135
Tab. 8.14 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom Geburtsmodus.....	136
Tab. 8.15 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am mütterlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom BMI der Mutter.....	137
Tab. 8.16 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am Darm-Mikrobiom bei Kindern von Müttern der T2D-Hoch- und Niedrigrisikogruppe.....	138
Tab. 8.17 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom maternalen BMI.....	139

Studienmaterial

Anhang 1 Faeces-Probenentnahme-Protokoll.....	140
Anhang 2 Medikamenten-Protokoll	141
Anhang 3 Food Frequency Fragebogen (© Toeller).....	142
Anhang 4 3-Tage-Ernährungstagebuch	151
Anhang 5 Allgemeiner Fragebogen	160
Anhang 6 Protokoll zur Library Quantifizierung mit PicoGreen dsDNA Assay Kit.....	162

Abkürzungsverzeichnis

ADA	American Diabetes Association
AGA	Appropriate for gestational age (10. bis 90. Geburtsgewichtspersentile)
AGT	Abnormale Glukosetoleranz
AK	Inselautoantikörper
AUC	Fläche unter der Kurve (Area under the curve)
bp	Basenpaare
cpb	Copy per bead (Verhältnis zwischen Library-Molekülen und Capture-Beads)
BMI	Body-Mass-Index
BS	Ballaststoffe
BZP	Beobachtungszeitpunkte
DDG	Deutsche Diabetes Gesellschaft
DRW	D-A-CH-Referenzwerte (Deutschland, Österreich und Schweiz)
emPCR	Emulsions-PCR
FFQ	Verzehrshäufigkeitsfragebogen (Food Frequency Questionnaire)
FS	Fettsäuren
GDM	Gestationsdiabetes mellitus
GWA	Genomweite Assoziationsstudie
HAPO	Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome-Studie
HbA1c	Hämoglobin, dessen A1c Untergruppe in glykolisierter Form vorliegt
HDL	Lipoprotein-Cholesterol mit hoher Dichte (high-density lipoprotein)
HOMA-IS	Homeostase Modell zur Bewertung der Insulinsensitivität (Homeostasis model assessment)
IADPSG	International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups
IFG	abnorme Nüchtern glukose (impaired fasting glucose)
IGT	Gestörte Glukosetoleranz (impaired glucose tolerance)
IQR	Interquartilsabstand (interquartile range)
Khe	Kohlenhydrate
KiGGS	Kinder- und Jugendgesundheitssurvey
LGA	Large for gestational age (> 90. Geburtsgewichtspersentile)
MID	Multiplex Identifier

OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
OTU	Operational Taxonomic Unit
ÖDG	Österreichische Diabetes Gesellschaft
NDDG	National Diabetes Data Group
NGT	Normale Glukosetoleranz
NVS II	Nationale Verzehrstudie II
PBMC	Mononukleäre Zellen des peripheren Blutes
PCR	Polymerasekettenreaktion
pp	Post partum
PPi	Pyrophosphat
PTP	Picotiterplatte
SDS	Standard Deviation Score
SGA	Small for gestational age (< 10. Geburtsgewichtspersentile)
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SSW	Schwangerschaftswoche
T1D	Typ-1-Diabetes mellitus
T2D	Typ-2-Diabetes mellitus
WHO	World Health Organisation
WHR	Waist-to-Hip-Ratio

1. Einleitung

Gestationsdiabetes (GDM) gehört mit einer Prävalenz von circa 5 % zu den häufigsten endokrinologischen Stoffwechselerkrankungen in der Schwangerschaft (Huy et al., 2012, Dabelea et al., 2005). Diese Erkrankung ist für Mutter und Kind nicht nur mit akuten Komplikationen während der Schwangerschaft und Geburt verbunden, sondern auch mit einem erhöhten Risiko, nach der Entbindung Typ-2-Diabetes (T2D) bzw. Übergewicht zu entwickeln (Boerschmann et al., 2010, Löbner et al., 2006, Bellamy et al., 2009).

Eigene Untersuchungen der prospektiven deutschen GDM-Studie haben gezeigt, dass mehr als die Hälfte (52,7 %) der Frauen nach einem GDM einen T2D innerhalb von acht Jahren entwickeln (Löbner et al., 2006). Als mögliche Einflussfaktoren für die postpartale Entwicklung eines T2D werden Übergewicht, Therapieform während der Schwangerschaft, Stillverhalten, Ernährungsverhalten, Alter der Mutter, sozioökonomischer Status und Ethnizität diskutiert (ADA, 2000, Huy et al., 2012, Schäfer-Graf et al., 2002).

Kinder von Frauen mit vorangegangenem GDM erfahren durch das veränderte Milieu im Mutterleib bereits besondere pränatale Prägungen. Diese können mit verschiedenen akuten wie auch chronischen Folgen einhergehen. Es gibt vermehrt Hinweise, dass diese Kinder im Laufe ihres Lebens häufiger an Adipositas und Diabetes erkranken, als Kinder von nicht-diabetischen Müttern (Boerschmann et al., 2010, Dabelea et al., 2000, Hillier et al., 2007). Im Rahmen der prospektiven deutschen GDM-Studie konnte gezeigt werden, dass Kinder von Müttern mit GDM im Alter von zwei, acht und elf Jahren eine Übergewichtsprävalenz von 17,2 %, 20,2 % und 31,1 % aufweisen (Boerschmann et al., 2010). Dies ist vor allem für die weiblichen Nachkommen von Bedeutung, da diese ein erhöhtes Risiko haben, selber an GDM zu erkranken. Somit bildet sich über mehrere Generationen ein Teufelskreis, der zur epidemiologischen Entwicklung von Adipositas und T2D beiträgt.

Bislang ist jedoch unklar, welche pathophysiologischen Mechanismen für das erhöhte Adipositasrisiko bei Kindern von Müttern mit GDM verantwortlich sind. Neben der genetischen Prädisposition wird vor allem die maternale Adipositas als ein wichtiger Einflussfaktor auf das kindliche Übergewicht in der Literatur diskutiert (Danielzik et al., 2002, Winkler et al., 2010b). Weiterhin sehen neueste Untersuchungen das komplexe Wechselspiel zwischen Mikroben des Darms und dem Körper als einen entscheidenden Faktor für die Entwicklung einer Vielzahl von chronischen Erkrankungen. Studien weisen darauf hin, dass das Darm-Mikrobiom einen Einfluss auf den Energiehaushalt und Metabolismus hat. Vermutlich spielt es dadurch auch eine Rolle in der Pathogenese des T2D

bei Müttern mit vorangegangenem GDM und bei der Entwicklung von Übergewicht bei deren Kindern (Backhed et al., 2004, Ley et al., 2006). Bis heute gibt es keine Studien, die das Darm-Mikrobiom und dessen Bedeutung für die Entstehung von postpartalem T2D bei Müttern mit GDM und Übergewicht bei deren Kindern untersucht haben.

Das Ziel der vorliegenden Dissertationsschrift ist es, Einflussfaktoren und Mechanismen auf die Entstehung von T2D bei Müttern nach einem GDM und auf die Entwicklung von Übergewicht bei ihren Nachkommen zu untersuchen. Die prospektive deutsche GDM-Studie ist eine Kohortenstudie, die durch das Institut für Diabetesforschung unter Leitung von Frau Prof. Dr. Ziegler initiiert wurde. In dieser Studie werden inzwischen über einen Zeitraum von 20 Jahren Mütter mit GDM sowie deren Kinder von Geburt an beobachtet. Diese Kohorte bietet daher eine einzigartige Möglichkeit, Einflussfaktoren auf die langfristige Entwicklung eines T2D pp bei Frauen mit GDM und Übergewicht bei deren Kindern zu untersuchen. Die Daten der prospektiven deutschen GDM-Studie wurden zur Auswertung der beiden ersten Projekte dieser Dissertation zur Verfügung gestellt.

Projekt 1: Stillen als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass Mütter mit GDM signifikant seltener und kürzer stillen, als Frauen ohne GDM und dass Stillen einen kurzfristigen günstigen Effekt auf den Glucosestoffwechsel der Mutter hat (Hummel et al., 2008, Walburg et al., 2010). Im Rahmen der prospektiven deutschen GDM-Studie wurden ab der Entbindung 304 Frauen bis zu 20 Jahre lang nachverfolgt. Durch die Analyse der Stilldaten soll erstmals untersucht werden, ob Stillen (ja/nein, Dauer) langfristig vor der Entwicklung von T2D schützt. Darüber hinaus sollen die Daten in Abhängigkeit von bereits bekannten Risikofaktoren, wie Adipositas und Insulintherapie während der Schwangerschaft, ausgewertet werden.

Projekt 2: Einfluss von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM

Frühere Studien haben gezeigt, dass die beiden mit T2D assoziierten Gene *HHEX-IDE* und *CDKALI* einen Einfluss auf die Gewichtsentwicklung von Kindern haben (Winkler et al., 2010a, Zhao et al., 2010). Ziel der hier durchgeführten Auswertung ist es zu untersuchen, ob die gleichen Gene ebenfalls die Gewichtsentwicklung der Kinder von Müttern mit vorangegangenem GDM beeinflussen und ob eine Interaktion dieser Genloci mit einer mütterlichen Adipositas besteht. Die Analyse soll an 185 Kindern der prospektiven deutschen GDM-Studie durchgeführt werden.

Ergänzend zur prospektiven deutschen GDM-Studie soll als 3. Projekt eine neue Studie, die POGO-Studie (Postpartum outcomes in women with gestational diabetes and their offspring), initiiert werden. Diese Studie soll Möglichkeiten schaffen, um einerseits Lebensstilfaktoren wie Ernährung, körperliche Aktivität und psychosoziale Faktoren zu erheben und andererseits eine Biobank für neue Forschungsansätze zu etablieren.

Projekt 3: Etablierung der POGO-Kohorte

Im Rahmen dieses Projektes soll unter meiner aktiven Mitarbeit das Studienprotokoll der POGO-Studie für eine einmalige Nachuntersuchung entwickelt und die Kohorte initiiert werden. Die POGO-Studie ist eine Querschnittsuntersuchung, mit dem Ziel 300 Frauen, die sich während ihrer Schwangerschaft wegen Verdacht auf GDM in der Ambulanz des Klinikums Schwabing in den letzten 15 Jahren vorgestellt haben, einzuschließen.

Die Daten dieser Studie werden herangezogen, um in der vorliegenden Arbeit den Einfluss der mütterlichen Ernährung auf das postpartale T2D-Risiko und die Rolle des Darm-Mikrobioms bei Mutter und Kind in einem GDM-Risiko-Kollektiv zu untersuchen.

Projekt 4: Ernährung als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

Der Lebensstil wird als ein Einflussfaktor auf das spätere T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM diskutiert (Stage et al., 2004). Zunächst wird der Fragestellung nachgegangen, ob sich Frauen mit GDM entsprechend der von Fachgesellschaften formulierten Empfehlungen ernähren und sich in ihrem Ernährungsverhalten von einem Normalkollektiv, der Nationalen Verzehrsstudie II (NVSII), unterscheiden. Weiterhin wird untersucht, ob sich Mütter mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko anders ernähren, als Frauen mit geringem T2D-Risiko und welche Rolle dabei der sozioökonomische Status der Mutter spielt. Hierfür sollen die Daten der Mütter mit GDM der POGO-Studie ausgewertet werden.

Projekt 5: Darm-Mikrobiom als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Müttern mit vorangegangenem GDM und auf die Entstehung von Übergewicht bei ihren Kindern

In dieser Arbeit soll die Veränderung des Darm-Mikrobioms von 30 Mutter-Kind-Paaren der POGO-Studie untersucht werden. Dabei ist von Interesse, ob sich Frauen mit erhöhtem T2D-Risiko von Frauen mit niedrigem Risiko unterscheiden. Zudem wird untersucht, ob sich Mütter in ihrem Darm-Mikrobiom ihrem Kind ähnlicher sind als anderen Kindern und ob ein erhöhtes postpartales T2D-Risiko der Mütter sowie die mütterliche Adipositas einen Einfluss auf das Darm-Mikrobiom der Kinder hat und somit ursächlich für das erhöhte

Adipositasrisiko der Kinder ist.

Zusammenfassend soll die Arbeit Aufschluss über die Entstehung von T2D bei Müttern mit vorangegangenem GDM und über die Entwicklung von Übergewicht bei ihren Kindern geben, um langfristig Präventionsstrategien entwickeln zu können.

2. Grundlagen

2.1 Pathophysiologie des GDM

GDM ist definiert als eine Glukosetoleranzstörung, die erstmals in der Schwangerschaft diagnostiziert wird (Kleinwechter et al., 2011). Um den heranwachsenden Fötus bestmöglich zu versorgen, kommt es während der Schwangerschaft zu einigen physiologischen Veränderungen im Organismus der Mutter. So kommt es zur Deckung des ansteigenden Glukosebedarfs des Feten in der zweiten Schwangerschaftshälfte zur Insulinresistenz im mütterlichen Organismus. Der Blutzucker der Mutter bleibt länger erhöht und kann durch die Plazentaschranke zum Feten gelangen. Der physiologische Anstieg der Insulinresistenz ist den antiinsulinär wirksamen Schwangerschaftshormonen wie Cortisol, Prolaktin, Progesteron und plazentarem Laktogen zuzuschreiben. Wahrscheinlich spielt dabei auch eine veränderte Freisetzung von Adipokinen und Zytokinen aus dem Fettgewebe und der Plazenta eine Rolle (Rieck und Kaestner, 2010, Harlev und Wiznitzer, 2010, Metzger et al., 2007, Lindsay, 2009). In einer normalen Schwangerschaft wird der gesteigerte Insulinbedarf durch eine vermehrte Insulinproduktion im Pankreas kompensiert. Es wird vermutet, dass Frauen die einen GDM entwickeln, neben der physiologisch einsetzenden Zunahme der Insulinresistenz, eine chronische Insulinresistenz aufweisen. Diese hat sich bereits schon vor der Gravidität entwickelt. Wenn die Insulinsensitivität zu stark herabgesetzt ist, kann der erhöhte Bedarf an Insulin durch den Pankreas nicht mehr gedeckt werden. Es entwickelt sich eine Insulinsekretionsstörung an den β -Zellen. Über den restlichen Verlauf der Schwangerschaft kommt es zur maternalen Hyperglykämie.

Nach der Geburt bildet sich die Hyperglykämie in vielen Fällen wieder zurück (Metzger et al., 2007, Harlev und Wiznitzer, 2010). Je höher die Sekretionsstörung der β -Zellen ist, desto stärker ist die Hyperglykämie bei GDM ausgeprägt. Bei einer Glukoseintoleranz liegt ein Verlust von ca. 40 % der β -Zellmasse vor, während bei einem manifesten T2D ein Verlust von ca. 60 % besteht (Harlev und Wiznitzer, 2010). Die β -Zellen sind aber nicht alleine für die Entwicklung eines GDM verantwortlich.

Die Hyperglykämie wird zusätzlich durch einen Anstieg der Glukoneogenese verstärkt, welche aufgrund einer bereits vorliegenden hepatischen Insulinresistenz und einem Insulinmangel noch verstärkt wird (Catalano, 1994, DeFronzo, 1988). In einer Studie von Worda et al. (2004) konnte eine Senkung von Adiponektin im Plasma von Frauen mit GDM

im Vergleich zu gesunden Frauen in der Schwangerschaft gezeigt werden. Adiponektin ist ein Adipozyten-spezifisches Protein, welches in bisherigen Studien in Zusammenhang mit Insulinsensitivität und Übergewicht gebracht wurde. Auch Veränderungen im Sekretionsmuster von anderen Adipokinen wie dem Hormon Leptin wurden in der Übersichtsarbeit von Miehle et al. (2012) im Zusammenhang mit der Entstehung von GDM diskutiert.

Die pathophysiologischen Veränderungen, die die Regulation der β -Zellfunktion und Insulinsensitivität beim GDM beeinflussen, sind sicherlich zu einem großen Teil analog zu den Mechanismen des prädiabetischen Stadiums des T2D. Jedoch werden diese pathophysiologischen Veränderungen, die zur Erkrankung von Diabetes führen, nur unvollständig verstanden (Metzger et al., 2007, Pendergrass et al., 1995). Die Mechanismen zur Regulierung der Insulinsekretion und der Insulinsensitivität beim GDM scheinen denen des T2D ähnlich zu sein. Ein komplexes Zusammenspiel von Umweltfaktoren und dem Einfluss von Genpolymorphismen wird in diesem Zusammenhang diskutiert (Lindsay, 2009).

2.2 Epidemiologie des GDM

Die Erkrankung GDM nimmt weltweit zu und tritt je nach Literaturangabe in 0,6 % bis 22 % aller Schwangerschaften auf (Kleinwechter et al., 2011). Ursächlich für die ungleichen Angaben der Prävalenz des GDM sind Unterschiede zwischen den verschiedenen Bevölkerungsgruppen, den untersuchten Kohorten (Risikogruppen, Gesamtpopulation), der verwendeten Testmethode wie auch des Testzeitpunkts und den diagnostischen Bewertungskriterien (Ben-Haroush et al., 2004, Buckley et al., 2012). In Deutschland basieren die aktuellsten Prävalenzberechnungen des GDM auf der repräsentativen deutschen Perinatalstatistik (AQUA, 2011, BQS, 2007) und auf den Daten des Kinder- und Jugendgesundheitssurvey (KiGGS) (Rki, 2008).

Das Institut für angewandte Qualitätsförderung und Forschung im Gesundheitswesen GmbH (AQUA) hat in Deutschland von 2001 bis 2010 über 99 % aller Klinikgeburten erfasst und stellt damit die umfangreichste, registerbasierte Datenbasis zum GDM dar. In diesem Datensatz entwickelten im Jahr 2010 3,7 % (Gesamt n=650.232; GDM n=24.000) der Schwangeren einen GDM (Abb. 2.1A).

Der KiGGS-Datensatz beinhaltet 15.000 Kinder und Jugendliche bis zu einem Alter von 17 Jahren. Der Survey stellt eine bevölkerungsrepräsentative Erhebung dar, bei der die Mütter nach einem Diabetes während der Schwangerschaft befragt wurden. Im Vergleich zu den

Perinataldaten zeigt sich bei Betrachtung der KiGGS-Mütter, deren Kinder in diesem Zeitraum geboren wurden, eine höhere GDM-Prävalenz von 5,3 % (Abb. 2.1B). Auch wenn die Daten des KiGGS wesentlich höhere Prävalenzen als die der Perinatalstatistik aufweisen, haben beide Datensätze einen ansteigenden Trend in der GDM-Prävalenz zu verzeichnen (Huy et al., 2012) (Abb. 2.1). Die Ergebnisse der beiden Erhebungen verdeutlichen die Problematik mit den zuvor aufgelisteten Einflussfaktoren auf die GDM-Prävalenz. Es wird vermutet, dass ein Anstieg des GDM-Screenings Einfluss auf die steigende GDM-Prävalenz hat (Dabelea et al., 2005, IQWiG, 2009). Aussagekräftige Studien mit repräsentativen Kollektiven fehlen. Ohne diese Kollektive ist eine fundierte Schätzung der wahren GDM-Prävalenz in Deutschland schwierig (IQWiG, 2009, Huy et al., 2012).

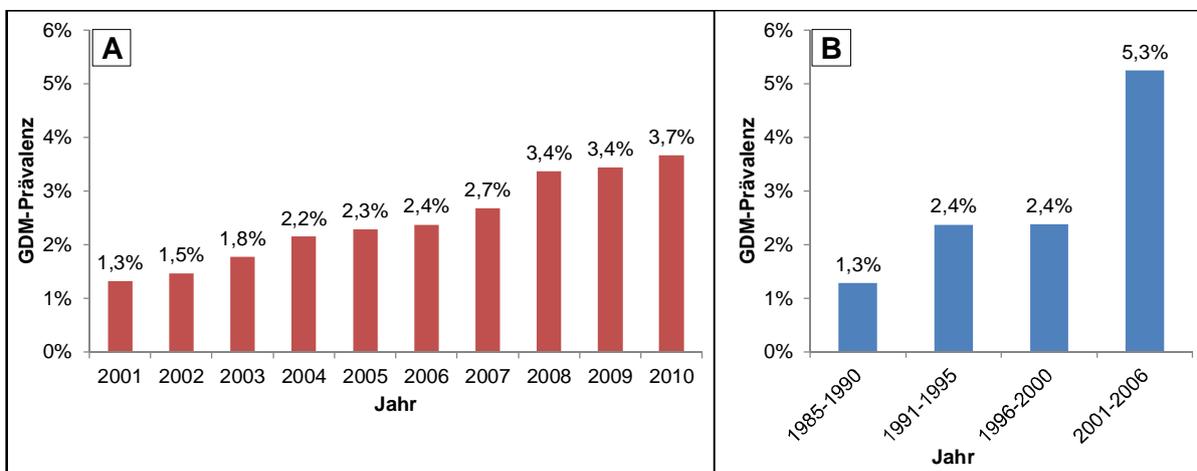


Abb. 2.1 Prävalenz des GDM in Deutschland. A) auf der Basis der Perinatalstatistik, modifiziert nach Huy et al. (2012); B) auf Basis des KiGGS-Datensatzes, modifiziert nach RKI (2008).

2.3 Diagnosekriterien des GDM

GDM ist eine Komplikation in der Schwangerschaft, die kurz- und langfristige Folgen für Mütter wie auch deren Kinder mit sich bringt. Aufgrund der hohen Prävalenz von GDM und seiner zahlreichen Komplikationen ist es besonders wichtig, die Folgen für Mutter und Kind abzumildern. Dazu ist eine rechtzeitige Diagnose und eine intensive Behandlung notwendig.

Die Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG) hat 2001 ein regionales Vorgehen für die Diagnostik des GDM vorgestellt. Die erstellten Grenzwerte basieren auf den Daten von Carpenter und Coustan (1982) und sollten als eine regionale Zwischenlösung bis zum Vorliegen einer internationalen Neubewertung der Diagnose-Grenzen dienen (Arbeitsgemeinschaft Diabetes und Schwangerschaft der, 2001, Kerner et al., 2001).

Bis zu diesem Zeitpunkt gab es kein klassisches Routine-Screening auf GDM. Sicherlich

wurde deshalb bei vielen Frauen der GDM nicht erkannt. Die DDG empfiehlt in den Leitlinien 2001, bei allen schwangeren Frauen eine Untersuchung auf GDM durchzuführen. Zur Diagnose sind zwei Verfahren vorgeschlagen. Bei der ersten Vorgehensweise wird bei Frauen zwischen der 24. und 28. Schwangerschaftswoche ein oraler 75 g Glukosetoleranztest (OGTT) durchgeführt. Nach einer mindestens achtstündigen Nahrungskarenz wird unter standardisierten Bedingungen eine Testlösung getrunken. Die Blutglukose wird vor dem Test sowie 60 und 120 Minuten nach der Glukoseaufnahme im venösen Plasma oder kapillar gemessen. Das zweite Verfahren besteht aus einer Zweistufendiagnostik. Dabei wird im ersten Schritt ein 50 g Glukose-Screening-Test, ebenfalls zwischen der 24. und 28. Schwangerschaftswoche, empfohlen. Der Test hat den Vorteil, dass er unabhängig von der Tageszeit und von einer vorausgegangenen Mahlzeit durchgeführt werden kann. Das heißt, dieser Test muss nicht nüchtern erfolgen. Verdacht auf GDM besteht, wenn der Grenzwert von 140 mg/dl nach einer Stunde erreicht oder überschritten wird (Abb. 2.2). Dann erfolgt im 2. Schritt ein standardisierter 75 g OGTT.

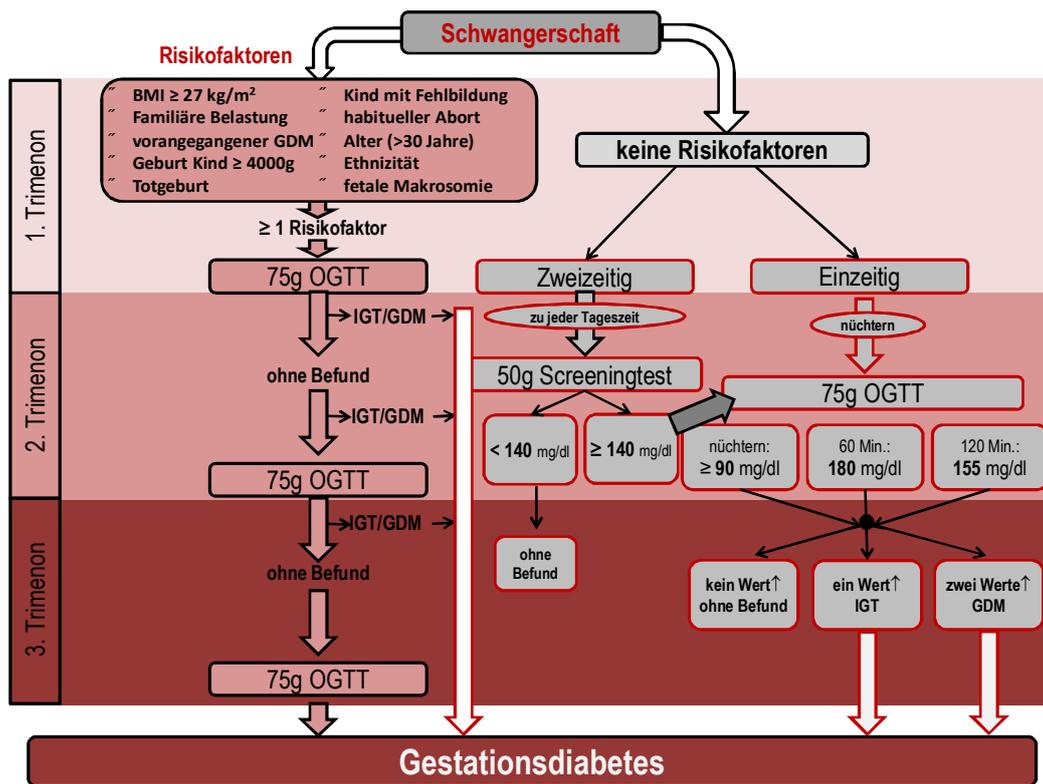


Abb. 2.2 Vorgehensweisen zur Diagnose von GDM nach den DDG Leitlinien von 2001, modifiziert nach DDG (2001). OGTT: oraler Glukosetoleranztest, IGT: gestörte Glukosetoleranz, GDM: Gestationsdiabetes mellitus, DDG: Deutsche Diabetes Gesellschaft.

In diesem Fall folgt auf den Screening-Test ein 75 g OGTT. Werden mindestens zwei der drei Grenzwerte $\times 95 \text{ mg/dl}$ (nüchtern), $\times 180 \text{ mg/dl}$ (60 Minuten), $\times 155 \text{ mg/dl}$ (120 Minuten)

überschritten, so liegt ein GDM vor. Bei nur einem pathologischen Wert wird von einer eingeschränkten bzw. gestörten Glukosetoleranz (IGT) gesprochen.

Bei Schwangeren, die mindestens einen der von der DDG beschriebenen Risikofaktoren für GDM vorweisen, soll bereits im ersten Trimenon ein OGTT durchgeführt werden. Bei einem negativen Befund soll dieser später wiederholt werden (DDG, 2001) (Abb. 2.2). Bislang fehlen gemeinsame internationale Diagnosekriterien. Die Verfahren zur Diagnose von GDM unterscheiden sich länderspezifisch und erschweren dadurch die Vergleichbarkeit von Studien (Tab. 2.1).

Tab. 2.1 Blutglukose-Grenzwerte zur Diagnose eines GDM in der 24. bis 28. Schwangerschaftswoche nach den verschiedenen Regionen, modifiziert nach Waldhäusl et al. (2004) und Kleinwechter et al. (2011)

Quellen (Jahr)	OGTT (in g)	Blutglukosewerte (mg/dl)				Anzahl pathologischer Werte	
		Nüchtern	1h	2h	3h		
USA	NDDG-Screening ¹	50		140			
	NDDG-Diagnose	100	105	190	165	145	× 2
	Carpenter Couston	100	95	180	155	140	× 2
	ADA, 4. Workshop- Konferenz für die Diagnose des GDM 1997	100	95	180	155	140	× 2
		75	95	180	155		> 2
Europa	DDG 2001	75	95 (85) ²	180	155		× 2
	ÖDG 2002	75	95	180	155		× 1
	WHO 1987	75			140		1

NDDG: National Diabetes Data Group, ADA: American Diabetes Association, DDG: Deutsche Diabetes Gesellschaft, ÖDG: Österreichische Diabetes Gesellschaft, WHO: World Health Organization,, ¹ wenn pathologischer Wert, dann OGTT mit 100g Glukose, ²Kapillarblut.

Neue Erkenntnisse aus randomisierten Therapiestudien und Beobachtungsstudien ermöglichten eine internationale Neubewertung der diagnostischen Vorgehensweise bei GDM. Den Meilenstein zu den neuen internationalen Diagnosekriterien lieferten die Ergebnisse der Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO)-Studie (Schäfer-Graf, 2011). Die HAPO-Studie ist eine Beobachtungsstudie die von 2000 bis 2006 in neun Ländern 25.000 Schwangere eingeschlossen hat. Bei dieser Studie wurde untersucht, welcher Grad der Hyperglykämie in der Schwangerschaft unterhalb der Kriterien eines manifesten Diabetes mit ungünstigen mütterlichen, fetalen und neonatalen Ergebnissen assoziiert ist (HAPO, 2008). Die neuen epidemiologisch begründeten diagnostischen Grenzwerte wurden erstmals 2009 auf dem amerikanischen Diabeteskongress im Rahmen der 6. Internationalen

Workshop-Konferenz über GDM vorgestellt.

In Zusammenarbeit mit der DDG und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG) wurde 2011 zur Diagnostik des GDM, nach den Empfehlungen des internationalen Konsensus-Gremiums (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG)), eine gemeinsam überarbeitete Leitlinie veröffentlicht. Die verwendeten Werte sind aktuell auch von der Amerikanischen Diabetesgesellschaft übernommen worden.

Die neuen Grenzwerte der IADPSG unterscheiden sich von den alten Grenzwerten nach Carpenter und Coustan (1982) nur geringfügig. Mit der aktuellen Definition kann ein Diabetes in der Gravidität nach einem Nüchternblutzuckerwert > 125 mg/dl, Spontanmessungen > 200 mg/dl oder nach dem HbA1c $> 6,5$ % bestimmt werden. Der OGTT bleibt mit etwas gesenkten Grenzwerten der Goldstandard, wird aber nur noch im venösen Plasma und nicht mehr kapillar gemessen (Tab. 2.2).

Für die Diagnostik eines GDM reicht nun bereits ein einzelner pathologischer Wert. Es wird nicht mehr zwischen GDM und einer gestörten Glukosetoleranz unterschieden (Schäfer-Graf, 2011, Kleinwechter et al., 2011). Als Besonderheit gilt eine Nüchtern-Glukose von 92-125 mg/dl (5,1-6,9 mmol/l) vor der 24 SSW. Diese wird nach der DDG Leitlinie von 2011 als GDM klassifiziert.

Tab. 2.2 Vergleich neuer und alter Blutglukose-Grenzwerte zur Diagnose von GDM im venösen Plasma, modifiziert nach Kleinwechter et al. (2011)

Jahr	OGTT (in g)	Blutglukosewerte (mg/dl)			Anzahl pathologischer Werte
		Nüchtern	1h	2h	
DDG 2001	75	95 (85) ¹	180	155	× 2
DDG 2011	75	92	180	153	× 1

¹Kapillarblut, neue Grenzwerte nach IADPSG-Konsensus-Empfehlungen und alte Grenzwerte nach Carpenter/Coustan.

2.4 Postpartale Folgen eines GDM für Mutter und Kind

Die Folgen eines GDM für die Mutter und ihr Kind sind vielfältig und besonders stark ausgeprägt, wenn die Störung im Glukosestoffwechsel unentdeckt bleibt (Metzger, 2007). Bisher setzen sich nur weniger Veröffentlichungen mit den komplexen Zusammenhängen und Konsequenzen für die Mutter mit GDM und ihr Kind auch über die Geburt hinaus auseinander. In der Literatur werden die kurzfristigen von den langfristigen Folgen

unterschieden, die in den folgenden Abschnitten erläutert werden.

2.4.1 Kurzfristige Folgen eines GDM für Mutter und Kind

Kind

Bei Kindern, die in der Schwangerschaft einer diabetogenen Stoffwechsellage ausgesetzt waren, besteht ein erhöhtes Risiko für Frühgeburtlichkeit, Makrosomie mit der Gefahr der Schulterdystokie, postpartale Hypoglykämie, Hypokalzämie, Polyglobulie, Hyperbilirubinämie und für Atemstörungen (Mitanchez, 2010, Yessoufou und Moutairou, 2011) (Tab. 2.3).

Tab. 2.3 Mögliche Kurz- und Langzeitfolgen des GDM für Mutter und Kind

	Kind	Mutter
Kurzfristige Folgen	<ul style="list-style-type: none"> • Makrosomie • Intrauteriner Fruchttod • Frühgeburtlichkeit • Schulterdystokie • Postpartale Hypoglykämie • Hypokalzämie • Polyglobulie • Hyperbilirubinämie • Atemwegsstörungen 	<ul style="list-style-type: none"> • Harnwegs- / Candidainfektionen • Periodontitis • Präeklampsie/Eklampsie • Schwangerschaftsinduzierte Hypertonie • Operative Entbindung • Schwere postpartale Blutungen
Langfristige Folgen	<ul style="list-style-type: none"> • Adipositas • Hypertonie • Glukosetoleranzstörung bzw. manifester Diabetes mellitus • Metabolisches Syndrom 	<ul style="list-style-type: none"> • Manifestation eines Diabetes mellitus • Wiederholungsrisiko • Hypertonie • Metabolisches Syndrom

Bei einem unbehandelten GDM erhöht sich nicht nur die kindliche Morbidität, sondern auch die Mortalität. Die häufigste Komplikation und auch das größte Problem bei der Geburt von Kindern aus Schwangerschaften mit GDM ist die Makrosomie und die damit einhergehende erhöhte Sectiorate (Mitanchez, 2010).

Bereits vor 30 Jahren hat Freinkel (1980) und auch Jorgen Pedersen die Hypothese formuliert, dass die intrauterine Umwelt Folgen für das spätere Leben mit sich bringt. Mittels dieser Hypothese, die als *fetal mediated teratogenesis* postuliert wird, soll der Zusammenhang zwischen der Hyperglykämie in der Schwangerschaft und dem starken Wachstum des Fetus beschrieben werden. Die mütterliche Glukosestoffwechselstörung kann durch den transplazentaren Übertritt von Glukose, freien Fettsäuren und Aminosäuren in den kindlichen

Kreislauf zu einer fetalen Hyperinsulinämie führen (American Diabetes Association, 2003, Metzger et al., 2007) (Abb. 2.3).

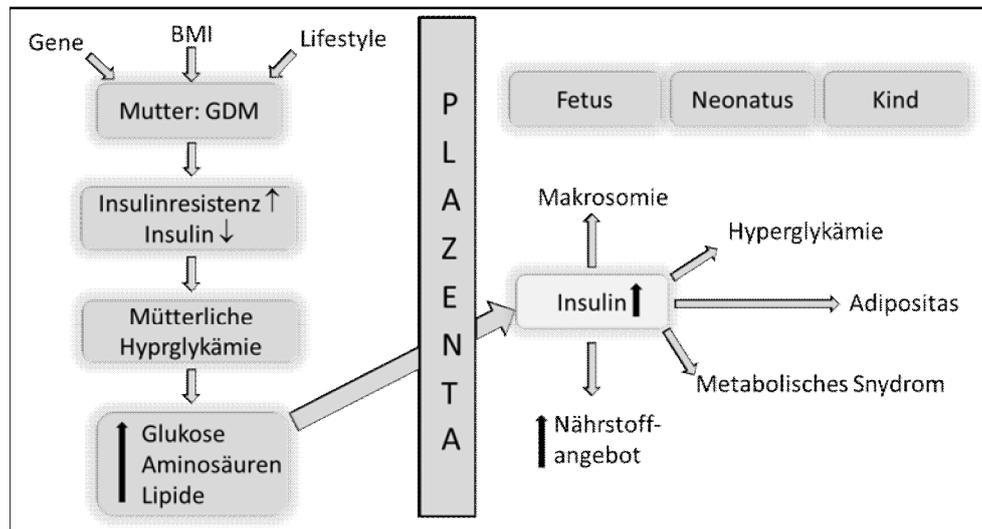


Abb. 2.3 Pedersen/Freinkel-Hypothese zur Erklärung des Zusammenhangs von Hyperglykämie in der Schwangerschaft und überproportionales fetales Wachstum. Die Hypothese beinhaltet, dass bereits Umweltfaktoren, die auf die Mutter einwirken, Auswirkungen auf den Fetus haben können und sich die Folgen bis in das Kindesalter zeigen können. Modifiziert nach Kautzky-Willer und Handisurya (2009).

Der sich gerade entwickelnde Pankreas des Fetus reagiert auf die Glukosebelastung mit einer gesteigerten Insulinproduktion. Insulin agiert hierbei als Wachstumshormon und übt eine wachstumsstimulierende Wirkung auf die insulinsensitiven Gewebe, also auf Leber, Herz, Lunge, Muskulatur und das subkutane Fettgewebe aus (Schäfer-Graf et al., 1998, Yessoufou und Moutairou, 2011). Die fetale Hyperinsulinämie spielt folglich eine wesentliche Rolle in der Pathogenese überproportionalen Wachstums, sowie der Entwicklung einer kindlichen Makrosomie (Geburtsgewicht > 90. Perzentile). Die postulierte Hypothese von Pedersen und Freinkel konnte durch die HAPO Studie bestätigt werden (Kautzky-Willer und Handisurya, 2009). Bei einer Untersuchung von Pima-Indianern in einer Studie von Pettitt et al. (1993) konnte gezeigt werden, dass die Kinder von Müttern mit GDM signifikant häufiger *š*large for gestational age \ddot{o} (LGA) als Kinder von nicht diabetischen Müttern zur Welt kommen. Auch in Studien mit Kindern kaukasischer Abstammung konnten diese Ergebnisse bestätigt werden (Crume et al., 2011, Lawlor et al., 2010).

Mutter

Die akuten Risiken für Mütter mit GDM bestehen in einem erhöhten Vorkommen an Harnwegsinfekten, Candidainfektionen, Periodontitis, schwangerschaftsinduzierter Hypertonie und Präeklampsie/Eklampsie (Kleinwechter et al., 2011, Weiss et al., 1999). Die

vermehrt auftretende Makrosomie der Kinder ist zum einen für die hohen Sectionraten und zum anderen für das häufigere Auftreten von vaginal-operativen Entbindungen, sowie schweren postpartalen Blutungen verantwortlich (Weiss et al., 1999) (Tab. 2.3).

2.4.2 Langzeitfolgen eines GDM beim Kind

Adipositas und postulierte Einflussfaktoren

Kinder, die einer diabetogenen Stoffwechsellage im Uterus ausgesetzt sind, erfahren pränatale Prägungen, die nicht nur akute, sondern auch chronische Folgen mit sich bringen. Als Langzeitfolgen werden Adipositas, Glukosetoleranzstörung, Diabetes, metabolische Syndrom und Hypertonie diskutiert (Wroblewska-Seniuk et al., 2009, Kleinwechter et al., 2011). In dieser Arbeit steht primär die Entwicklung von Adipositas und das damit zusammenhängende erhöhte Risiko für das spätere Auftreten von Diabetes bei Kindern von Müttern mit GDM im Fokus.

Es wird diskutiert, dass Kinder von Müttern mit vorangegangenem GDM nicht nur ein erhöhtes Geburtsgewicht aufweisen. Vermutlich haben diese Kinder langfristig, d.h. im Kindes- und sogar noch im Erwachsenenalter, ein erhöhtes Risiko übergewichtig bzw. adipös zu werden. Der mütterliche Body-Mass-Index (BMI), aber auch die Genetik, das Stillverhalten, die Ernährung und der sozioökonomische Status der Mutter scheint einen Einfluss auf das Übergewichtsrisiko bei diesen Kindern zu haben (Lawlor et al., 2010, Kleiser et al., 2009).

Erste Studien zeigten, dass ein hohes Geburtsgewicht auch im Schulalter zu einem deutlich erhöhtem Risiko für Übergewicht bei Kindern führen kann (Catalano et al., 2009, Dabelea, 2007). Die genauen pathophysiologischen Mechanismen für das erhöhte Adipositasrisiko bei Kindern von Müttern mit GDM sind bislang ungeklärt. Bekannt ist, dass ein erhöhter mütterlicher Glukosespiegel wie auch eine Behandlung mit Insulin mit einem erhöhtem Geburtsgewicht des Kindes einhergeht (Metzger et al., 2008).

In einer Studie von Boerschmann et al. (2010) konnte zusätzlich gezeigt werden, dass bei vergleichbarem Geburtsgewichtstatus die Prävalenz von Übergewicht bei Kindern von Müttern mit GDM signifikant erhöht ist im Vergleich zu Kindern von Müttern mit Typ-1-Diabetes (T1D). Dies zeigte sich auch bei der Gegenüberstellung zu Kindern von nicht diabetischen Müttern. Dieser Befund verdeutlicht, dass nicht die Diabeteserkrankung bzw. die gestörte Glukosehomöostase der Mutter während der Schwangerschaft per se das Risiko des Kindes für Übergewicht und Adipositas beeinflusst. Vielmehr konnten Boerschmann et al. (2010) mit ihren Ergebnissen zeigen, dass ein erhöhter BMI der Mutter zu Beginn der

Schwangerschaft der stärkste Prädiktor für späteres Übergewicht der Kinder ist. Welche Mechanismen dazu führen, dass insbesondere Kinder von adipösen Müttern mit GDM selbst übergewichtig werden, ist noch nicht ausreichend geklärt. Es gibt Hinweise, dass eine metabolische Programmierung in utero hierfür verantwortlich ist. Dafür sprechen unter anderem die Ergebnisse der Kieler-Adipositas-Präventions-Studie von Danielzik et al. (2002): die Forscher konnten zeigen, dass der mütterliche BMI mehr Einfluss auf das kindliche Übergewicht hat, als der väterliche BMI. Diese Hypothese wird auch durch Ergebnisse im Mausmodell bestätigt. Eine zum Zeitpunkt der Konzeption durch Überfütterung erzielte Adipositas führte zu einem Anstieg der Adipositas-Prävalenz bei den Nachkommen. Gleichzeitig lagen systemische Veränderungen von Insulin- und Adiponektinspiegeln, sowie eine erhöhte Expression von Genen, die die Lipidbiosynthese regulieren, vor. Der Anstieg der Adipositas-Prävalenz war dabei unabhängig von Veränderungen des Geburtsgewichts (Shankar et al., 2010, Shankar et al., 2008).

Es ist allerdings davon auszugehen, dass ein Zusammenspiel von weiteren Faktoren vorliegt, wie z.B. von Genen, die das Adipositas-Risiko bei Kindern von Müttern mit vorangegangenen GDM verändern. Die Entwicklung von neuen systembiologischen Methoden und Ansätzen, wie z.B. genomweiter Assoziationsstudien (GWA) haben neue Möglichkeiten geschaffen, pathogenetische Mechanismen der Adipositas zu erforschen (Andreasen und Andersen, 2009). Anhand großer GWAs konnten bisher unbekannte Gene und Genregionen identifiziert werden, die mit Übergewicht, Adipositas und der Fettverteilung im Zusammenhang stehen. Für die Entstehung von kindlichem Übergewicht konnten Assoziationen mit den Single Nucleotide Polymorphismen (SNPs) *HHEX-IDE*, *CDKAL*, *PPAR γ* und *FTO* gefunden werden (Zhao et al., 2009, Winkler et al., 2009). Es fehlen jedoch Untersuchungen, die sich speziell mit dem Zusammenhang von Adipositas- und Diabetes-assoziierten SNPs und der Entwicklung von Übergewicht bei Kindern von Müttern mit GDM befassen haben.

2.4.3 Langzeitfolgen eines GDM bei der Mutter

T2D und postulierte Einflussfaktoren

Eine schwerwiegende Folge des Schwangerschaftsdiabetes kann bei den Müttern das spätere Auftreten einer Glukosetoleranzstörung sein. Die Inzidenz eines postpartalen T2D steigt mit zunehmendem zeitlichem Abstand zur Indexgeburt (erste Geburt zu der Daten eines GDM aus dem Klinikum Schwabing vorliegen) (Damm, 1998). Je nach Kohorte und Untersuchungskriterien entsteht bei 35-60 % der Frauen nach GDM innerhalb von 10 Jahren

eine gestörte Glukosetoleranz (Kleinwechter et al., 2011) (Tab. 2.4).

Tab. 2.4 Risiko für die Entwicklung von T2D oder einer gestörten Glukosetoleranz nach vorangegangenem GDM

Zeit nach Entbindung	T2D (%)	IFG/IGT (%)	Quelle
13 Wochen	5,5	16	(Schäfer-Graf et al., 2009)
6 Jahre	9,2	19,1	(Hunger-Dathe et al., 2006)
8 Jahre	52,7	6	(Löbner et al., 2006)
10 Jahre	40,0	27,0	(Lauenborg et al., 2004)

T2D: Typ-2-Diabetes mellitus, IFG: abnorme Nüchtern glukose, IGT: gestörte Glukosetoleranz.

Der T2D ist eine chronische Stoffwechselkrankheit, die sich von einer vorwiegenden Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis zu einem vorwiegend sekretorischen Defekt der β -Zellen mit Insulinresistenz erstrecken kann (Nolan et al., 2011, Mehnert und Standl, 1998). Die periphere Resistenz gegenüber dem Hormon Insulin besteht im Wesentlichen in den Zielgeweben Skelettmuskel, Leber und Fettgewebe. Dabei ist vorrangig der Skelettmuskel mit ca. 80 % für eine gestörte Glukoseverstoffwechslung in der postprandialen Phase verantwortlich. Leber und Fettgewebe sind dagegen primär zum Zeitpunkt der Nüchternphase für die Glukoseverstoffwechslung von Bedeutung (DeFronzo, 2004). Die klinische Manifestation eines T2D resultiert aus einer langjährigen metabolischen Fehlentwicklung, die mit einer veränderten Kinetik der Insulinsekretion einhergeht (Harris et al., 1992, DeFronzo, 2004).

Nach heutigem Kenntnisstand spielen für die postpartale Entstehung der Sekretionsstörung und der Insulinresistenz bei Müttern mit GDM genetische Prädispositionen als auch Umweltfaktoren eine große Rolle (Metzger, 2007, Schäfer-Graf und Vetter, 1999, Kleinwechter et al., 2011). In der vorliegenden Arbeit wird vorrangig der Einfluss der folgenden Faktoren untersucht: Stillverhalten, Ernährungsverhalten, maternaler prägravid BMI, Insulintherapie während der Schwangerschaft und sozioökonomischer Status.

Etwa 80-90 % aller Typ-2-Diabetespatienten sind übergewichtig. Dies verdeutlicht, welche zentrale Rolle vermutlich der Faktor Übergewicht, bzw. Adipositas bei der Manifestation von T2D spielt. Mit welchem Mechanismus speziell Übergewicht zur Insulinresistenz führen kann, ist noch nicht genau geklärt. Jedoch konnte gezeigt werden, dass die Fettverteilung ein wichtiger Faktor zu sein scheint (Hu, 2011). Es gibt Hinweise, dass in erster Linie die Akkumulation des viszeralen Fettgewebes Insulinresistenz auslöst. Speziell die bei der Lipolyse freigesetzten freien Fettsäuren fördern die Insulinresistenz. Die Glukoseaufnahme in

die Skelettmuskulatur wird durch die gesteigerten freien Fettsäurespiegel gesenkt. Durch die erhöhten freien Fettsäurelevel wird auch die hepatische Glukosefreisetzung verstärkt und es findet eine Lipotoxizität der β -Zelle statt, wodurch die Insulinsekretion gestört wird (Bajaj und Defronzo, 2003).

Bei mehreren Studien wurde bereits ein Zusammenhang zwischen einem erhöhten BMI der Mutter mit GDM zu Beginn der Schwangerschaft und der Entstehung von T2D berichtet (Pallardo et al., 1999, Löbner et al., 2006). In einer prospektiven Kohortenstudie zeigten Löbner et al. (2006), dass adipöse Frauen ohne Inselautoantikörper ein Risiko von 50,1 % hatten, innerhalb der nächsten acht Jahre einen manifesten Diabetes zu entwickeln. Dagegen lag das Risiko normalgewichtiger Frauen bei 34,6 %. Im Gegensatz dazu konnte Aberg et al. (2002) keine Assoziation zwischen einem erhöhten BMI und der Entwicklung eines T2D pp beobachten.

Als ein weiterer T2D-Risikofaktor wird eine Insulintherapie in der Literatur beschrieben (Ben-Haroush et al., 2004, Aberg et al., 2002, Catalano et al., 1991, Löbner et al., 2006). Greenberg et al. (1995) untersuchten 94 Patientinnen sechs Wochen nach der Geburt, die an T2D erkrankt waren. Die Behandlung mit Insulin während der Schwangerschaft stellte bei diesen Frauen den stärksten Einflussfaktor auf die Entstehung von T2D dar. Auch bei Löbner et al. (2006) wird die Insulintherapie als ein starker Prädiktor für die Entstehung von T2D diskutiert. Frauen, die mit Insulin therapiert wurden, hatten ein Risiko von 84,5 % und Frauen mit Diättherapie ein Risiko von 23,2 % innerhalb von acht Jahren nach einem GDM an einem T2D zu erkranken.

Das Stillverhalten der Mütter nach einem GDM wird als ein weiterer Einflussfaktor auf die Entstehung von T2D pp diskutiert. Stillen wird mit einem verbesserten mütterlichen Glukose- und Lipidstoffwechsel kurz nach der Geburt assoziiert (Kjos et al., 1993). Bisher gibt es nur Studien, wie auch die von Kjos et al (1993), die nur die kurzfristigen Effekte des Stillens auf die Entstehung eines T2D pp bei Müttern mit einem vorangegangenen GDM untersucht haben. Unklar ist bislang, ob Stillen auch langfristig einen Einfluss auf das Diabetesrisiko hat, und welche Mechanismen dem protektiven Effekt zu Grunde liegen.

Ein weiterer Einflussfaktor auf das postpartale Diabetesrisiko ist das Ernährungsverhalten der Mutter. Wie bereits bekannt ist, beeinflusst die Aufnahme von Nährstoffen die Entwicklung des Körpergewichts wie auch den Körperfettanteil. Sowohl ein erhöhtes Körpergewicht, als auch ein erhöhter Körperfettanteil scheinen das Risiko für T2D pp zu erhöhen (Mehnert und Standl, 1998). In einer prospektiven Studie mit fast 400 Frauen mit GDM konnten Kim et al. (2011) zeigen, dass Frauen, die sechs bis zwölf Wochen pp eine gestörte Glukosetoleranz

oder einen Diabetes entwickelten, eine höhere Energie-, Protein und tierische Fettaufnahme vorwiesen als Frauen mit einer normalen Glukosetoleranz. Auch für diesen Prädiktor fehlen Studien, die das Ernährungsverhalten und dessen Wirkung auf die postpartale Diabetesentwicklung über einen längeren Zeitraum untersuchen.

Neben der Ernährung ist vermutlich auch der sozioökonomische Status ein Einflussfaktor auf das postpartale Diabetesrisiko. Jedoch wird der Zusammenhang zwischen dem sozioökonomischen Status und der Entwicklung von T2D in der bisherigen Literatur kontrovers diskutiert. (Denis et al., 2011, Kowall et al., 2011).

2.5 Darm-Mikrobiom

Die Analyse des Darm-Mikrobioms ist ein neuer systembiologischer Forschungsansatz: Dieser kann dazu beitragen, die Mechanismen die zu der Entstehung eines T2D pp bei Müttern mit vorangegangenem GDM sowie zur Entwicklung von Übergewicht beim Kind zu untersuchen. Der Darm nimmt als ein wichtiges Kommunikationsorgan eine zentrale Rolle zwischen Umweltfaktoren, Stoffwechsel und Immunsystem ein.

Nach der Geburt erfolgt die Kolonisation des sterilen Darms durch Mikroorganismen, die zum größten Teil aus Bakterien bestehen. Die Gesamtheit aller Mikroorganismen im Darm wird als intestinales Mikrobiom bezeichnet. Der Begriff „Mikrobiom“ wurde von dem 2008 verstorbenen US-Molekularbiologen Joshua Lederberg in Anlehnung an das Humangenomprojekt geprägt (Lederberg und McCray, 2001). Primär gehören dazu die Bakterien des Darms, aber auch von Haut, Urogenitaltrakt, Mund, Rachen und Nase. Lederberg erkannte, dass die Mikroflora ein Teil des menschlichen Stoffwechselsystems ist. Speziell der Dickdarm beherbergt ein enormes mikrobielles Ökosystem mit 1×10^{11} Bakterien und einem Gewicht von 1,5 kg. Mittlerweile wird das Mikrobiom als ein eigenständiges Organ, sogar als eine Art „Superorgan“ bezeichnet (Neish, 2009). Dieses sogenannte Organ steht mit vielen Körperfunktionen in dynamischer, wechselseitiger Verbindung.

Bis vor kurzem waren die Kenntnisse über die Funktion des Darm-Mikrobioms begrenzt. Erst durch die Entwicklung neuer Analyseverfahren zur Differenzierung der verschiedenen Arten und der genetischen Diversität zeichnet sich ein immer deutlicheres Bild ab. Hierfür werden Sequenzierungen von bakterienspezifischen 16S-rRNA-Abschnitten und Hochdurchsatz-Sequenzierungsmethoden (Shotgun- und Pyrosequenzierung) angewendet (Metzker, 2010).

Die Wechselwirkung der Mikroben mit den Grenzflächen im Darm hat zahlreiche Auswirkungen auf Körperfunktionen und Krankheitsentstehung. Es zeichnet sich ab, dass

Bakterien im Darm chronische Krankheiten, wie Morbus Crohn und Asthma (Immunpathologien), Adipositas und Diabetes (Stoffwechselkrankheiten) und multiple Sklerose oder Morbus Alzheimer (neurologische Erkrankungen) beeinflussen können (Neish, 2009, Fujimura et al., 2010).

Das Darm-Mikrobiom scheint laut Nicholson et al. (2012) nicht nur Auswirkungen auf die Nährstoffaufnahme und den Energiehaushalt, sondern auch einen Einfluss auf eine Vielzahl von metabolischen Stoffwechselwegen zu haben. Neueste Studien postulieren Zusammenhänge zwischen dem Darm-Mikrobiom und der Entstehung von Übergewicht und T2D (DiBaise et al., 2008, Larsen et al., 2010, Tsai und Coyle, 2009).

In einer Publikation von Cani und Delzenne (2009) wird bereits ein möglicher Einfluss des Darm-Mikrobioms auf die Gewichtsentwicklung diskutiert. Dabei nimmt vermutlich die Zusammensetzung des Mikrobioms eine wichtige Rolle in der Regulation des Körpergewichts ein (Ley et al., 2006). In einer Studie von Larsen et al. (2010) konnte gezeigt werden, dass ein verändertes Darm-Mikrobiom vermutlich im Zusammenhang mit T2D steht. Welche Mechanismen und Einflussfaktoren hinter diesen Veränderungen in der Darm-Mikrobiota stehen, ist noch unklar. Es ist bereits bekannt, dass sobald das Kind die erste feste Nahrung zu sich genommen hat, sich ein rudimentäres Darm-Mikrobiom mit einer limitierten Anzahl von Bakterienspezies entwickelt hat. Mit zunehmendem Alter tauchen immer neue Spezies auf und aerobe Bakterien werden durch fakultativ aerobe und anaerobe Arten ersetzt (Palmer et al., 2007). Einige Studien weisen darauf hin, dass die Zusammensetzung der Darmflora durch den Geburtsmodus und das Stillverhalten beeinflusst wird und im Wesentlichen im ersten Lebensjahr festgelegt wird (Dominguez-Bello et al., 2010, Penders et al., 2005, Palmer et al., 2007).

Ein weiterer Faktor, der die Zusammensetzung und Aktivität der Bakterien im Darm vermutlich beeinflusst und somit neben direkten Effekten auch einen indirekten Einfluss auf Diabetes und Übergewicht ausübt, scheint die Ernährung zu sein (Diamant et al., 2011, Turnbaugh et al., 2008, Jeffery und O'Toole, 2013).

Bisher mangelt es an Studien, die das Darm-Mikrobiom von Mutter-Kind-Paaren im Kindes- oder Erwachsenenalter analysieren. Dabei fehlen speziell Analysen über den Zusammenhang zwischen dem Darm-Mikrobiom und den Folgen eines GDM bei Mutter und Kind.

3. Studiendesign und Methoden

Die in dieser Arbeit bearbeiteten Fragestellungen wurden im Rahmen der prospektiven deutschen GDM-Studie und der POGO-Studienpopulation untersucht. Während die prospektive deutsche GDM-Studie bereits etabliert war und die erhobenen Daten und Probenmaterial für die Dissertation zur Verfügung standen, wurde die POGO-Kohorte im Rahmen der Dissertation und unter meiner aktiven Mitarbeit etabliert.

3.1 Prospektive deutsche GDM-Studie

3.1.1 Studiendesign

Die prospektive deutsche GDM-Studie ist eine deutschlandweite, prospektive Verlaufsstudie, die seit 1989 am Institut für Diabetesforschung in München unter Leitung von Frau Prof. Dr. Ziegler durchgeführt wird (Boerschmann et al., 2010, Löbner et al., 2006). Über einen Zeitraum von inzwischen 20 Jahren werden Mütter mit GDM sowie deren Kinder von Geburt an beobachtet.

Ziel/Endpunkt:

Ziel der prospektiven deutschen GDM-Studie ist es, das Risiko für die Entwicklung eines Diabetes pp bei Müttern mit vorangegangenen GDM zu evaluieren. Andererseits soll der Frage nachgegangen werden, wie viele der Kinder von Müttern mit GDM Übergewicht entwickeln und welche Risikofaktoren dabei eine Rolle spielen.

Rekrutierung:

In den Jahren 1989 bis 1999 wurden 481 Patientinnen mit GDM im Rahmen der prospektiven deutschen GDM-Studie aus mehreren Zentren in Deutschland rekrutiert, wie bereits durch Fuchtenbusch et al. (1997) und Ferber et al. (1999) beschrieben wurde. Die Aufnahme der Patientinnen in die Studie erfolgte bei ihrer Einweisung zur Entbindung, unabhängig von der Behandlung während der Schwangerschaft. Bei allen Frauen war bereits in der Schwangerschaft ein GDM nach den Kriterien der Deutschen-Diabetes-Gesellschaft mittels einem 75g OGTT diagnostiziert worden. Nach diesen Kriterien lag bei den Frauen ein GDM vor, wenn zwei der drei Grenzwerte $\times 95$ mg/dl (nüchtern), $\times 180$ mg/dl (60 Minuten), $\times 155$ mg/dl (120 Minuten) überschritten wurden. Von den Patientinnen wurden 289 diätetisch behandelt und 148 mit Insulin therapiert. In der Studie sind mehr als 98 % der Familien kaukasischer Abstammung.

Die Teilnahme an der Studie war freiwillig und konnte jederzeit von den Familien beendet werden. Es liegen von allen Familien Einverständniserklärungen vor. Die Ethikkommission der Bayerischen Landesärztekammer hat die Studie genehmigt und zugelassen (Nr. 95357).

Mit Hilfe der Daten aus der prospektiven deutschen GDM-Studie sollten Risikofaktoren für die langfristige postpartale Entwicklung eines T2D bei Frauen mit GDM identifiziert werden. Insgesamt nahmen 304 Patientinnen der ursprünglichen Studienpopulation an mindestens einer Folgeuntersuchung teil und konnten in die Analyse eingeschlossen werden (Tab. 3.1).

Tab. 3.1 Charakteristika der Frauen mit GDM der prospektiven deutschen GDM-Studie, die im Rahmen dieser Arbeit analysiert wurden

Variablen	n (%)
Alter bei Geburt	304
< 35 Jahre	240 (79,0)
× 35 Jahre	64 (21,0)
BMI (Anfang Schwangerschaft)	188
< 30 kg/m ²	127 (67,6)
× 30 kg/m ²	61 (32,4)
Dauer der Schwangerschaft	270
< 37 Wochen	28 (10,4)
× 37 Wochen	242 (89,6)
Therapie in der Schwangerschaft	302
Diät	186 (61,6)
Insulin	116 (38,4)
Vorangegangene Schwangerschaften	270
Keine	125 (45,8)
1	88 (32,2)
2	36 (13,3)
> 2	21 (7,7)
Diabetes in der Verwandtschaft 1. Grades	286
	108 (37,8)
Rauchen während Schwangerschaft	304
	19 (6,3)
Stillinformation (gesamt)	264
Gestillt	201 (76,1)

Werte dargestellt als n mit Prozent (n (%)), BMI: Body-Mass-Index.

Des Weiteren bildeten die Kinder der prospektiven deutschen GDM-Studie die Kohorte zur Analyse des Einflusses von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit GDM. Für die Untersuchung der T2D-assoziierten Risikogene stand Datenmaterial von 185 Kindern der prospektiven deutschen GDM-Studie im Alter von 1 bis 10 Jahren zur Verfügung (Tab. 3.2). Daten für Größe und Gewicht lagen zu 549 Messzeitpunkten vor.

Tab. 3.2 Charakteristik der Kinder der prospektiven deutschen GDM-Studie, die in die Genotypisierungs-Analyse eingeschlossen wurden

Variablen	Mittelwerte mit \pm SD oder n (%)
BMI-SDS	0,34 \pm 1,14
Gewichts-SDS	0,34 \pm 1,03
Größen-SDS	0,18 \pm 1,05
Geburtsgewichtspzentile	64,8 \pm 30,3
LGA	52 (32,3)
Alter	5,1 \pm 4,2
Alter (letzte Nachuntersuchung)	8,6 \pm 5,0
Mütterlicher BMI \times 30 kg/m ²	58 (31,3)
Geschlecht (männlich)	111 (60,0)

Werte dargestellt als Mittelwerte mit Standardabweichung (SD) oder Anzahl (n (%)) und Prozent, LGA (Large for gestational age): Geburtsgewichtspzentile > 90, BMI: Body-Mass-Index, SDS: Standard Deviation Score; n=185.

Ablauf der Studie:

Abb. 3.1 veranschaulicht die Nachuntersuchungszeitpunkte der Mütter und ihrer Nachkommen von Geburt bis hin zum 20. Lebensjahr. Auf die Datenerhebung wird in den folgenden Abschnitten genauer eingegangen.

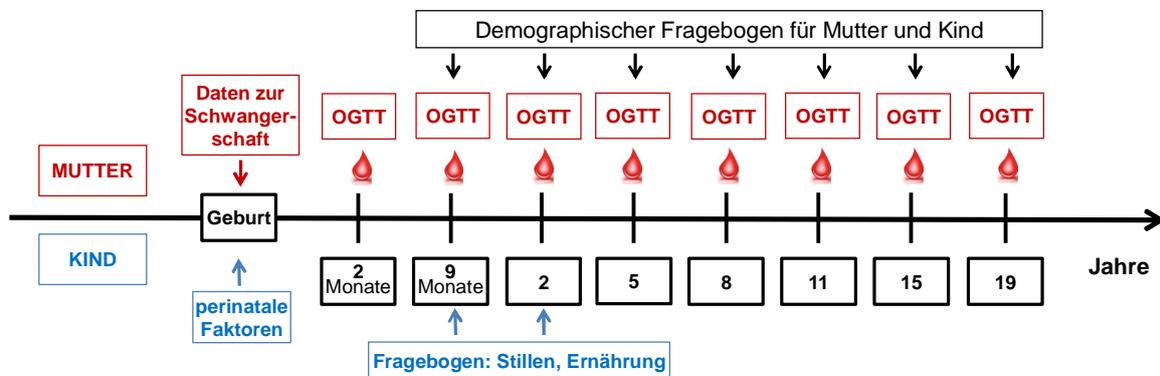


Abb. 3.1 Schema zum Ablauf der prospektiven deutschen GDM-Studie.

3.1.2 Bioproben

Zu den Zeitpunkten 9 Monate, 2, 5, 8, 11, 15 und 19 Jahre nach der Geburt wurden bei Mutter und Kind venöse Blutproben gesammelt (Abb. 3.1).

Zusätzlich erfolgte bei den Frauen eine Kontrolle der Glukosetoleranz bei ihren Hausärzten mittels 75 g OGTT zu den Zeitpunkten 2 und 9 Monate sowie 2, 5, 8, 11, 15 und 19 Jahre nach der Geburt. Zur Diagnostik eines Diabetes wurden die Kriterien der Amerikanischen Diabetes Gesellschaft verwendet. Wurde bei einem 75g OGTT nach 120 Minuten mindestens zweimal 1.) ein Wert von \times 200 mg/dl, oder 2.) ein Gelegenheitsblutzuckerwert \times 200 mg/dl

gemessen, dann lag ein T2D vor. Seit 1997 wurde auch ein erhöhter Nüchternblutzucker als ein weiteres Diabetes Diagnosekriterium in diese Studie aufgenommen (mindestens zwei Messungen > 126 mg/dl) (ADA, 2003, Löbner et al., 2006).

3.1.3 Soziodemographische und anthropometrische Datenerhebung

Zum Zeitpunkt der Geburt wurden mittels eines Fragebogens demographische Daten von Mutter und Kind erfasst (Abb. 3.1). Daten zur Schwangerschaft, wie z.B. der BMI der Mutter zu Beginn der Schwangerschaft und perinatale Faktoren (z.B. Schwangerschaftsdauer), wurden dem Mutterpass entnommen. Fragebögen zur Erfassung von Umweltfaktoren (z.B. Rauchen in der Schwangerschaft) wurden durch die Eltern beantwortet.

Das Geburtsgewicht wurde für das Geschlecht des Kindes und für die Schwangerschaftsdauer korrigiert und als Perzentile der Referenzpopulation, ermittelt durch das deutsche Geburtenregister, angegeben (Voigt et al., 1996). Kinder mit Geburtsgewichtszentilen < 10 gelten als *small for gestational age* (SGA) und Kinder mit Geburtsgewichtszentilen > 90 wurden als *large for gestational age* (LGA) klassifiziert. *Appropriate for gestational age* (AGA) sind alle Kinder mit einer Geburtsgewichtszentile zwischen der 10. und 90. Perzentile. Die Erhebung von Informationen zur Gewichtsentwicklung, Verhaltensgewohnheiten, Umweltfaktoren und über das Auftreten von Diabetes in der Familie erfolgte bei jeder Untersuchung mit Hilfe von Fragebögen bei Mutter und Kind.

Anhand der Körpergröße und des Körpergewichts wurde der BMI bei den Müttern und Kindern berechnet ($\text{BMI} = \text{Körpermasse [kg]} / \text{Körperhöhe [m]}^2$). Übergewicht und Adipositas ist bei den Müttern mit einem $\text{BMI} \times 25 \text{ kg/m}^2$ und $\times 30 \text{ kg/m}^2$ definiert. Der BMI der Kinder wird als Perzentile dargestellt, die alters- und geschlechtsspezifisch nach der deutschen Referenzpopulation korrigiert wurde (Kromeyer-Hauschild et al., 2001). Als übergewichtig wurden die Kinder klassifiziert, bei denen der BMI höher lag als bei 90 % der Kinder der Referenzgruppe ($\text{BMI} \times 90.$ Perzentile). Als adipös galten Kinder, deren BMI höher war als bei 97 % der Referenzpopulation ($\text{BMI} \times 97.$ Perzentile).

Die Erfassung des Stillverhaltens und der frühkindlichen Ernährung erfolgte nach 9 Monaten und 2 Jahren anhand eines Fragebogens. Die Stilldauer wurde unterteilt in die Kategorien: nicht gestillt, Stillen ≤ 3 Monate, Stillen > 3 Monate und nicht voll gestillt. Das Stillen wurde nach den WHO-Kriterien als Vollstillen (ausschließliches Stillen) definiert, wenn die Kinder Muttermilch mit oder ohne zusätzliche Gabe von Wasser oder Getränken auf Wasserbasis, Vitamine und Medikamente, aber keine Formulanahrung, Milch oder Beikost erhielten (WHO, 2006).

3.2 POGO-Studie

(Postpartum outcomes in women with Gestational Diabetes and their offspring)

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine neue Kohortenstudie initiiert, die den Aufbau einer umfangreichen Biobank sowie die Erforschung von pathophysiologischen Mechanismen des T2D bzw. Übergewicht bei Müttern mit GDM und deren Kindern ermöglichte.

3.2.1 Studiendesign

Die neu initiierte POGO-Studie wurde am vom Institut für Diabetesforschung am Helmholtz Zentrum München unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Ziegler durchgeführt. Sie ist eine Querschnittsstudie in die Frauen und deren Kinder eingeschlossen wurden, die während der Schwangerschaft aufgrund eines erhöhten GDM-Risikos an einem GDM-Screening teilgenommen hatten. Bis zu zehn Jahre nach der Geburt wurden die Mütter zusammen mit ihren Kindern einmalig nachuntersucht.

Ziel:

Das primäre Ziel der POGO-Studie ist es, potentielle Mechanismen und Stoffwechselwege zu identifizieren, die zu einer Entstehung von T2D pp bei Frauen mit GDM und zu einer Entwicklung von Übergewicht bei deren Kindern führen.

Bei allen Teilnehmern wurde im Rahmen der Nachuntersuchung ein OGTT durchgeführt. Wie in Hummel et al. (2013) beschrieben, erfolgte die Diagnose des T2D anhand der neuen Leitlinien der DDG von 2011 (Kerner und Brückel, 2012). Die Diagnose Diabetes wurde bei den Müttern gestellt, wenn mindestens einer der folgenden Referenzwerte überschritten wurde:

- HbA1c \times 6,5 % (\times 48 mmol/l)
- Gelegenheits-Plasmaglukosewert von \times 200 mg/dl (\times 11,1 mmol/l)
- Nüchtern-Plasmaglukose von \times 126 mg/dl (\times 7,0 mmol/l)
- OGTT-2-Stunden-Wert im venösen Plasma \times 200 mg/dl (\times 11,1 mmol/l)

Eine Neuerung stellte hier die Verwendung des HbA1c zur Diabetes-Diagnose dar. Eine abnorme Nüchternglukose wird für den Bereich von 100 $\hat{=}$ 125 mg/dl (5,6 $\hat{=}$ 6,9 mmol/l) im venösen Plasma definiert. Eine gestörte Glukosetoleranz liegt nach einem OGTT bei 2-Stunden-Plasmaglukosewerten von 140 $\hat{=}$ 199 mg/dl (7,8 $\hat{=}$ 11,0 mmol/l) und bei Nüchtern-Glukosewerten von mehr als 126 mg/dl ($<$ 7,0 mmol/l) vor. Die Grenzwerte des OGTTs der Kinder entsprechen denen der Mütter. Jedoch muss bei einer Überschreitung der Grenzwerte

des OGTTs, die Diagnose mit einer Wiederholung des OGTTs bestätigt werden (Neu et al., 2012). Übergewicht und Adipositas waren wie unter 3.1.3 beschrieben, definiert.

Rekrutierung:

Ausgangspopulation für die Rekrutierung der Studienpopulation waren 1829 Frauen, die zwischen 1998 und 2009 entbunden haben. Sie waren während einer oder mehrerer Schwangerschaften aufgrund eines erhöhten GDM-Risikos zwischen der 24. und 28. Schwangerschaftswoche in der persönlichen Ermächtigungssprechstunde von Prof. Dr. Ziegler, PD Dr. Hummel und PD Dr. Füchtenbusch. Im oben genannten Zeitraum haben 1829 Frauen an einem GDM-Screening im Klinikum Schwabing teilgenommen. Dabei wurde bei 1226 Schwangeren ein GDM diagnostiziert.

Ein bis maximal zehn Jahre nach der Geburt wurden die Mütter mit und ohne GDM zusammen mit ihren Kindern zu einer einmaligen Nachuntersuchung in das klinische Studienzentrum des Instituts für Diabetesforschung eingeladen. Ebenso wurden auch Geschwisterkinder, die bereits vor oder nach der Index-Schwangerschaft (erste Schwangerschaft, bei der Daten zum GDM-Screening vorlagen) geboren wurden, zur Nachuntersuchung eingeladen.

Alle teilnehmenden Mütter mussten ihr Einverständnis schriftlich erklären. Bei den Kindern mussten beide Elternteile die Zustimmung zur Studienteilnahme schriftlich erteilen. Die Ethikkommission der Technischen Universität München hat die Studie am 08.12.10 genehmigt und zugelassen (Nr. 2937).

Bis zum Zeitpunkt der Analysen (Juli 2013) wurden 121 Mütter und 182 Kinder in die POGO-Studie eingeschlossen. Von den 121 Teilnehmerinnen lag bei 105 Müttern (86,8 %) mindestens ein GDM in einer vorangegangenen Index-Schwangerschaft vor (Abb. 3.2). Unter den eingeschlossenen Kindern befinden sich 133 Index-Kinder (Daten zum GDM-Screening lagen vor) und 49 nicht-Index-Kinder. Insgesamt waren 117 (88,0 %) Index-Kinder in Utero einem GDM ausgesetzt (Abb. 3.3).

Für die Fragestellungen der vorliegenden Arbeit wurden nur Mütter mit GDM und ihre Index-Kinder untersucht.

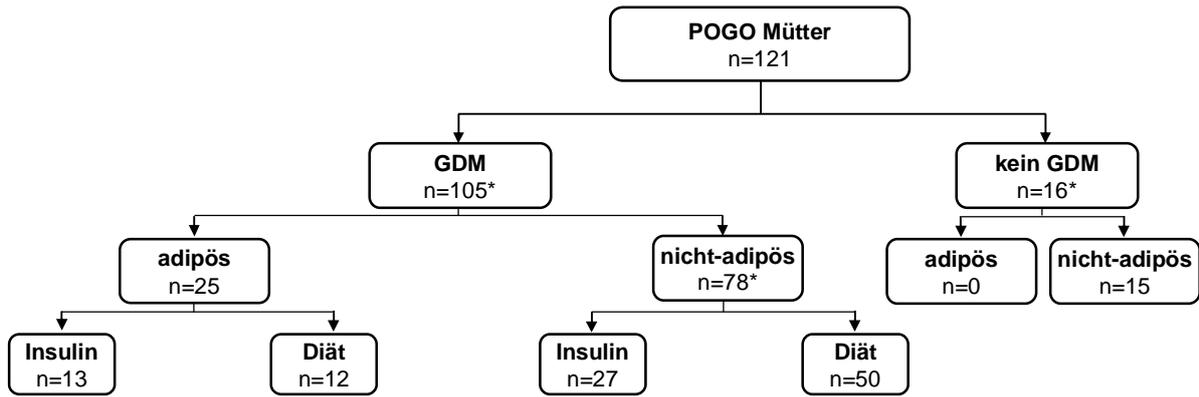


Abb. 3.2 Flussdiagramm der Mütter, die in die POGO-Studie eingeschlossen wurden. Die Diagnose GDM (Gestationsdiabetes) erfolgte in mindestens einer Index-Schwangerschaft. Insulin/Diät bezieht sich auf die Therapie während eines GDM. *Fehlender Wert in der nächsten Ebene, NGT: normale Glukosetoleranz.

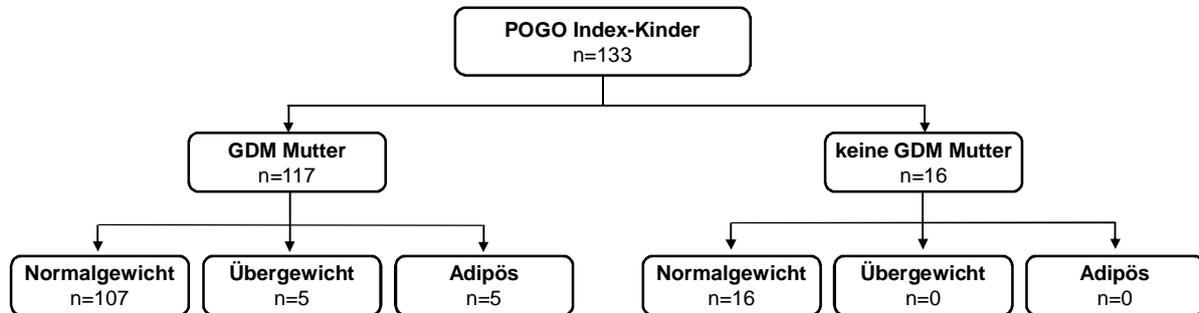


Abb. 3.3 Flussdiagramm der Index-Kinder der POGO-Studie. Normalgewicht, Übergewicht und Adipositas wurden zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung oder aus der letzten U-Heft-Messung ermittelt, GDM: Gestationsdiabetes.

Ablauf der Studie:

In Abb. 3.4 ist das POGO-Studiendesign dargestellt. Bei einem einmaligen Nachuntersuchungstermin wurden von den in die Studie eingeschlossenen Müttern und Kindern Blutproben gesammelt, anthropometrische Messungen durchgeführt und Daten zur Demographie, Ernährung und Aktivität abgefragt. Auf die Datenerhebung wird in den folgenden Abschnitten genauer eingegangen.

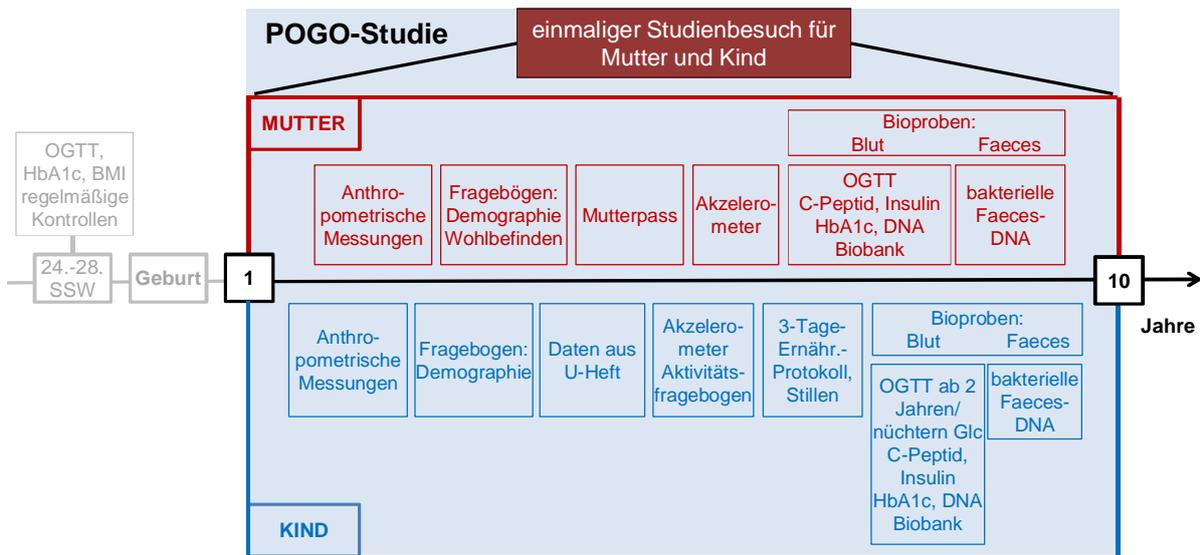


Abb. 3.4 POGO-Studiendesign. Während eines einmaligen Follow-ups wurden Daten von den teilnehmenden Müttern und Kindern erhoben.

3.2.2 Bioproben

Faeces-Proben:

Beim POGO-Studienbesuch erhielten alle Studienteilnehmer Anleitung und Versandmaterial für die Sammlung der Faeces-Proben. Diese wurde zu Hause durchgeführt. Um den Kontakt mit Spülwasser zu vermeiden wurden Stuhlfänger eingesetzt (Süsse Labortechnik, Art.-Nr. S1000). Zur Überführung der Proben in die Stuhlröhrchen (Sarstedt, 76/20 Stuhlröhrchen) wurde ein in dem Deckel des Röhrchens integrierter Spatel verwendet. Die Studienteilnehmer füllten einen Probenentnahme-Protokoll (Anhang 1) mit Uhrzeit und Datum aus. Die entnommenen Faeces-Proben schickten sie in einem wattierten Umschlag möglichst zeitnah (max. innerhalb 72 Stunden) an das Analyselabor des Institutes für Diabetesforschung am Helmholtz-Zentrum München.

Studienbesucher, die zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung Antibiotika eingenommen hatten, mussten nach sechs Monaten die Faeces-Probenentnahme wiederholen. Auf einem mitgeschickten Medikamenten-Protokollen sollten alle eingenommenen Medikamente und Erkrankungen eingetragen werden (Anhang 2).

Beim Eingang der Faeces-Proben ins Labor wurde die Transportzeit berechnet. Das Aliquotieren und Einfrieren der Proben erfolgte zeitnah. Bis dahin wurden sie im Kühlschrank gelagert. Die Einwaage von vier Proben mit jeweils mindestens 100 mg erfolgte mit Hilfe eines sterilen Spatels (Sarstedt; 81.970 PP) in Eppendorf-Tubes (Safe-Lock, 2ml). Die Proben wurden in flüssigem Stickstoff für ca. 2 Minuten abgekühlt und dann bei -80°C gelagert.

Blutproben:

Bei mehrmaligen Blutentnahmen wurde ein peripherer Venenverweilkatheter (Vasofix® Braunüle®, BRAUN) verwendet. Die Bestimmung des HbA1c erfolgte im Klinikum Schwabing in der Abteilung für Klinische Chemie. Die entnommenen Blutproben wurden zu Serum, Plasma, PBMC und DNA verarbeitet und unter optimierten Bedingungen gelagert. Wenn kein OGTT durchgeführt wurde, dann erfolgte nur eine Abnahme zum Zeitpunkt 0.

Glukosetoleranztest: Bei den Müttern wie auch bei den Kindern wurde ab einem Alter von 2 Jahren ein OGTT im Studienzentrum durchgeführt. Die Probanden bekamen pro Kilogramm Körpergewicht 1,75 g Glukose (maximal eine Gesamtmenge von 75 g Glukose) in Form einer Lösung zu trinken. Zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Verabreichen der Glukoselösung wurden Blutproben zur Bestimmung des C-Peptides sowie der Insulin- und Glukosewerte abgenommen. In welchem zeitlichen Ablauf die Proben entnommen wurden, ist in Abb. 3.5 dargestellt.

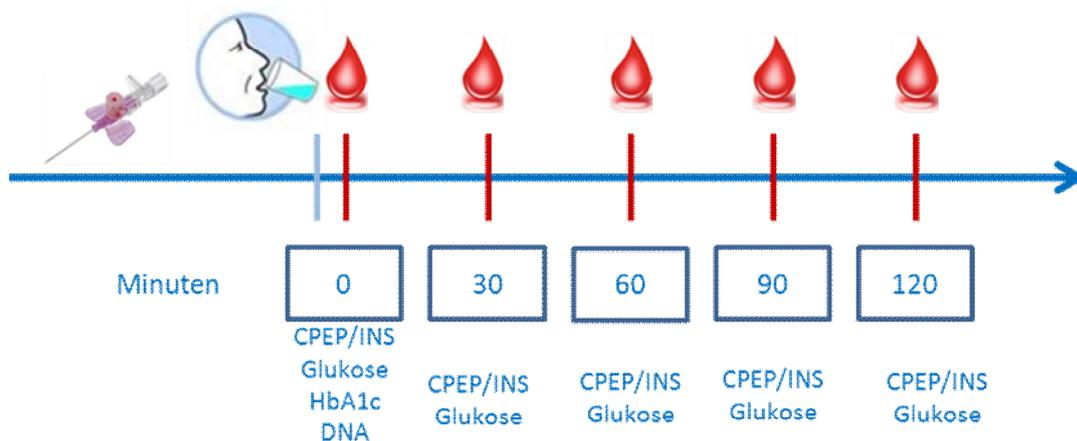


Abb. 3.5 Zeitverlauf des OGTT zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90, 120 Minuten nach trinken der Glukoselösung.

3.2.3 Ernährungserhebung

Mütter - Ernährung

Zur Untersuchung des Ernährungsverhaltens der Mütter der POGO-Studie wurde ein Verzehrshäufigkeitsfragebogen (Food Frequency Questionnaire (FFQ)) nach Toeller eingesetzt (Anhang 3).

Um typische Ernährungsmuster von Risikogruppen beschreiben zu können, haben Toeller et al. (2010) den Fragebogen NARI (Nahrungsaufnahme bei Risikogruppen) entwickelt. Dieser berücksichtigt deutsche Ernährungsgewohnheiten und trägt dem Nahrungsangebot im Jahr 2010 Rechnung. Der Verzehrshäufigkeitsfragebogen (FFQ 85) ist ein semiquantitativer Fragebogen mit 85 ausgewählten Items. Mit 69 Fragen wird die Häufigkeit des Verzehrs von in Deutschland üblichen Lebensmitteln bzw. Lebensmittelgruppen in einem Zeitraum von vier Wochen vor dem Untersuchungstermin abfragt. Die 85 Items lassen sich einteilen in: 1. Fleisch / Fleischerzeugnisse, Wurstwaren; 2. Fisch / Fischerzeugnisse / Krustentiere; 3. Eier / Gerichte auf der Basis von Eiern; 4. Milch / Milcherzeugnisse, Käse; 5. Süßwaren; 6. Brot / Getreideerzeugnisse / Backwaren; 7. Nüsse / Samen; 8. Knabberartikel; 9. Fette; 10. Suppen / Eintöpfe; 11. Saucen / würzende Zutaten; 12. Obst / Obsterzeugnisse; 13. Gemüse / Hülsenfrüchte; 14. Kartoffeln / Kartoffelerzeugnisse und Fragen zum Konsum von alkoholfreien und alkoholischen Getränken. Der Verzehr von nicht aufgeführten Items kann ebenfalls notiert werden. Für jedes Item im FFQ 85 stehen 6 Antwortmöglichkeiten für die Verzehrshäufigkeit zur Auswahl: 1= nie oder ganz selten, 2= 1 bis 3 mal pro Monat, 3= 1 bis 2 mal pro Woche, 4= 3 bis 6 mal pro Woche, 5= 1 mal pro Tag, 6= mehrmals pro Tag. Den Studienteilnehmern wurde das Ausfüllen des Fragebogens von geschultem Fachpersonal erklärt.

Die einzelnen Items wurden in die Ernährungssoftware Prodi® 5 basis Version 5.9 (Nutri-Science GmbH, Freiburg, Deutschland) jeweils mit den Mengenangaben für eine mittlere Portionsgröße eingegeben. Die Mengenangaben der einzelnen Portionsgrößen wurden von Frau Toeller in einer Standardisierungsliste festgehalten und in diese Arbeit übernommen. Um Eingabefehler zu reduzieren und um die Eingabe zu erleichtern, wurde in Prodi® eine Ernährungsprotokoll-Vorlage mit allen Items des FFQ 85 angelegt, die jeweils nur durch die Mengenangaben und die zusätzlich Verzehrten Items ergänzt werden musste.

Für die Mütter wurde mit Hilfe von alters- und geschlechtsspezifischen Referenzwerten die benötigte Nährstoffzufuhr ermittelt. Hierfür wurden Referenzwerte der Fachgesellschaften für Ernährung aus Deutschland, Österreich und der Schweiz verwendet (D-A-CH Referenzwerte:

DRW) (DGE et al., 2012). Mit Ausnahme der Richtwerte für die Energiezufuhr handelt es sich bei den Referenzwerten um Mengen, von denen angenommen wird, dass sie nahezu alle Personen der jeweiligen Bevölkerungsgruppe vor ernährungsbedingten Gesundheitsschäden schützen und bei ihnen für eine volle Leistungsfähigkeit sorgen (DGE et al., 2012). Die von den Müttern prozentual erreichten Anteile der DRW dienten zur Auswertung. Da eine eindeutige Zuordnung der empfohlenen Nährstoffmenge für eine Personengruppe nicht immer möglich war, wurden einige Daten modifiziert und im Anhang Tab. 8.1 aufgelistet.

Um das postpartale Ernährungsverhalten der Mütter mit GDM in Abhängigkeit des postpartalen T2D-Risikos untersuchen zu können, wurde ein T2D-Risikoscore verwendet. Dieser Score basiert auf gewichteten Risikofaktoren der prospektiven deutschen GDM-Studie (BMI am Anfang der Schwangerschaft, Insulintherapie während der Schwangerschaft, Diabetes in der Familie und Stillen). Anhand dieses Scores wurden die POGO-Mütter mit vorangegangenem GDM nach ihrem postpartalen T2D-Risiko in eine Hoch- und Niedrigrisikogruppe unterteilt (Köhler et al., 2014). Die Unterteilung in diese zwei T2D-Risikogruppen wurde auch im Rahmen der Darm-Mikrobiom-Analyse verwendet.

Kinder - Stillen:

Daten zur Stilldauer wurden während des Studienbesuchs durch geschultes Studienpersonal erhoben. Es wurde die gesamte Stilldauer, wie auch die Dauer des Vollstillens in Wochen abgefragt.

Kinder - Ernährung im Kindesalter:

Die Ernährung im Kindesalter wurde in der POGO-Studie mit 3-Tage-Ernährungstagebüchern dokumentiert (Anhang 4). Die Mütter wurden gebeten, die Ernährung ihrer Kinder an zwei Wochentagen und einem Wochenendtag zu protokollieren. Nach Fertigstellung erfolgte die Rücksendung der Tagebücher an das Institut für Diabetesforschung.

Die Mengenangaben konnten anhand von Haushaltsgrößen, Stückgewichten oder durch ein zusätzliches Fotobuch angegeben werden. Das Fotobuch wurde von der EsKiMo-Studie übernommen, einer bundesweiten repräsentativen Ernährungsstudie für 6-17-jährige Kinder und Jugendliche (n= 2.506) des Robert Koch-Instituts (RKI) und der Universität Paderborn. (Mensink et al., 2007, Van Kappel et al., 2006, Hesecker et al., 2008).

3.2.4 Aktivitätserhebung

Die körperliche Aktivität wurde mittels Akzelerometern (Acti Graph, Gt3X Activity Monitor, USA) über sieben Tage zusammen mit Aktivitätsfragebögen für die Mütter (Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität) und Kinder (MoMo Fragebogen des KiGGS) erfasst (Frey et al., 1999, Opper et al., 2007).

3.2.5 Soziodemographische und anthropometrische Datenerhebung

Soziodemographische Daten:

Anhand eines allgemeinen Fragebogens wurden demographische und sozioökonomische Daten erfasst (Anhang 5). Es wurden Informationen von den Eltern der in die Studie eingeschlossenen Kinder abgefragt (Muttersprache, Nationalität, Geburtsland, Familienstand, Bildung, Berufstätigkeit, Raucher / Nichtraucher, Rauchen in der Schwangerschaft, Größe und Gewicht), Fragen zu ihrem Familienleben und Fragen zur Diabetes-Familienanamnese gestellt (Personen im Haushalt, ländliche Umgebung / Kleinstadt / Großstadt, Haushaltsnettoeinkommen und Diabetes in der Verwandtschaft).

Bildung eines Schichtindex:

Die soziodemografischen Daten dienen als Grundlage, um die Mütter in drei sozioökonomische Klassen mit Hilfe eines Punktgruppenverfahrens klassifizieren zu können (Tab. 3.3).

In vielen Studien werden zur Messung des sozioökonomischen Status mehrdimensionale Indices verwendet, die auf den Angaben Bildung, Berufsstatus und Einkommen der Person oder Familie basieren (Lange et al., 2007b). Nachdem keine Daten zum Berufsstatus vorlagen, wurde unter Verwendung der beiden anderen Indikatoren und in Anlehnung an den in der Nationalen Verzehrsstudie II (NVS II) verwendeten Schichtindex ein sozioökonomischer Schichtindex entwickelt (NVS II, 2008c). Die Bildung dieses Index basiert auf der Überlegung, dass das soziale Niveau von der Finanzkraft des Haushalts (Haushaltsnettoeinkommen) und dem Bildungsniveau (Schul-/Berufsausbildung des Befragten) beeinflusst wird. Die Ausprägungen der zwei Merkmale werden in Tab. 3.3 dargestellt. Deren Punktwert steigt mit der Höhe der Merkmalsausprägung. Die Werte für die beiden Bereiche wurden aufsummiert und ergaben die Gesamtpunktzahl, mit der eine Zuordnung zur sozialen Position der Mütter erfolgte. Dieser Index kann zwischen zwei und zwölf Punkten liegen. Im Falle einer fehlenden Information wurde die verbleibende Punktzahl doppelt für die Berechnung der Gesamtpunktzahl verwendet. Anhand der erreichten

Punktzahl konnten die Mütter in eine der drei sozioökonomischen Klassen Unterschicht, Mittelschicht und Oberschicht zugeordnet werden.

Tab. 3.3 Score für den sozioökonomischen Schichtindex, gebildet aus dem Bildungsstatus der Mutter sowie dem Nettoeinkommen der Familie pro Monat

Score für Sozioökonomischen Schichtindex			
Bildung Mutter	Score	Nettoeinkommen der Familie pro Monat	Score
(Noch) kein Schulabschluss	1	< 1000 €	1
Hauptschulabschluss	2	1000 bis < 2000 €	2
Realschulabschluss	3	2000 bis < 3000 €	3
Abitur	4	3000 bis < 4000 €	4
Berufsausbildung	5	> 4000 €	5
Studium	6		

Sozioökonomischer Schichtindex										
Score	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Soziale Schicht	Unterschicht			Mittelschicht				Oberschicht		

Anthropometrische Daten und Bestimmung der Körperzusammensetzung:

Während des POGO-Studienbesuches wurden unter standardisierten Bedingungen anthropometrische Daten von geschultem Studienpersonal gemessen und dokumentiert. Bei Kindern im Alter von 2 Jahren erfolgte die Größemessung mittels Infantometer und die Gewichtsmessung auf dem Rücken liegend, ohne Kleidung und Windel. Bei älteren Kindern wie auch bei den Müttern wurde die Größe barfuß, an einem Stadiometer aufrecht stehend, gemessen. Das Gewicht wurde mit leichter Bekleidung auf einer kalibrierten Waage, mit einer Genauigkeit von ±10 g ermittelt.

Das Gewicht von Mutter und Kind wurde wie unter 3.1.3 beschrieben, als BMI und BMI-Perzentilen dargestellt. Hüft- und Taillenumfang wurden bei den Studienteilnehmern mit einem Maßband ermittelt. Die Messung des Hüftumfangs erfolgte horizontal mit einem Rollmaß in Höhe des maximalen Gefäßumfangs auf 0,1 cm genau. Der Taillenumfang wurde horizontal zwischen der letzten Rippe und der höchsten Stelle des Darmbeinkammes gemessen. Mit Hilfe dieser beiden Messgrößen wurde der Waist-to-Hip-Ratio (WHR) berechnet ($WHR = \text{Taillenumfang (cm)} / \text{Hüftumfang (cm)}$).

Um Rückschlüsse auf den Körperfettanteil der Probanden ziehen zu können, wurde im Rahmen des POGO-Studienbesuches die Hautfaldendicke gemessen. Die Bestimmung erfolgte in Anlehnung an die Messmethode des KiGGS mittels Kaliper an zwei definierten

Messpunkten (Stolzenberg et al., 2007). Zuerst wurde die subscapuläre Hautfalte gemessen. Diese befindet sich an der rechten Körperseite und am lateralen unteren Scapulawinkel in Richtung des Rippenverlaufs. Danach folgte die Messung am Trizeps. Dabei wurde die Dicke an der Rückseite des rechten Oberarms über dem *Musculus triceps brachii* in einer gedachten horizontalen Verlängerungslinie des unteren Scapulawinkels erfasst. Die Summe der Hautfaldendicken fasst diese beiden Parameter summarisch zusammen. Anhand dieser Messwerte konnten mittels Regressionsgleichungen Rückschlüsse auf den Gesamtkörperfettanteil geschlossen werden (Slaughter et al., 1988).

3.2.6 Sonstige Angaben und Messungen

Informationen zur Schwangerschaftsdauer stammten aus den Untersuchungsheften der Kinder. Die Schwangerschaftsdauer in Wochen (SSW) wurde ab dem ersten Tag der letzten Menstruation berechnet.

Angaben zum Alter der Mutter bei Geburt des Kindes, Geburtsmodus, Apgar-Wert nach fünf und nach zehn Minuten und die Gewichtsentwicklung des Kindes von Geburt an wurden aus den Untersuchungsheften der Kinder entnommen.

Daten zur Gewichtsentwicklung der Mutter während der Schwangerschaft stammten aus dem Mutterpass. Dabei wurden alle Gewichtsdaten, die an den einzelnen gynäkologischen Untersuchungsterminen im Mutterpass notiert wurden, dokumentiert.

Bei der Nachuntersuchung erfolgte die Messung des arteriellen Blutdrucks auskultatorisch durch den Studienarzt nach standardisierten Bedingungen möglichst zweimal im Abstand von wenigen Minuten am dominanten Arm. Die Größe der Manschette musste so gewählt werden, dass sie mindestens zwei Drittel des Oberarmes bedeckt.

3.3 Analytische Methoden

3.3.1 Sequenzierung des Darm-Mikrobioms

Zur Sequenzierung der DNA aus Faeces-Proben wurde das Verfahren von der Firma Roche (Roche 454 GS FLX Titanium) angewendet. Diese Methode beruht auf der bereits 1990 von Ronaghi und Kollegen erdachten Pyrosequenzierung (Ronaghi et al., 1999). Die einzelnen Schritte die zur 454-Sequenzierung nötig waren, sind in einem Arbeitsablauf in (Abb. 3.6) dargestellt.

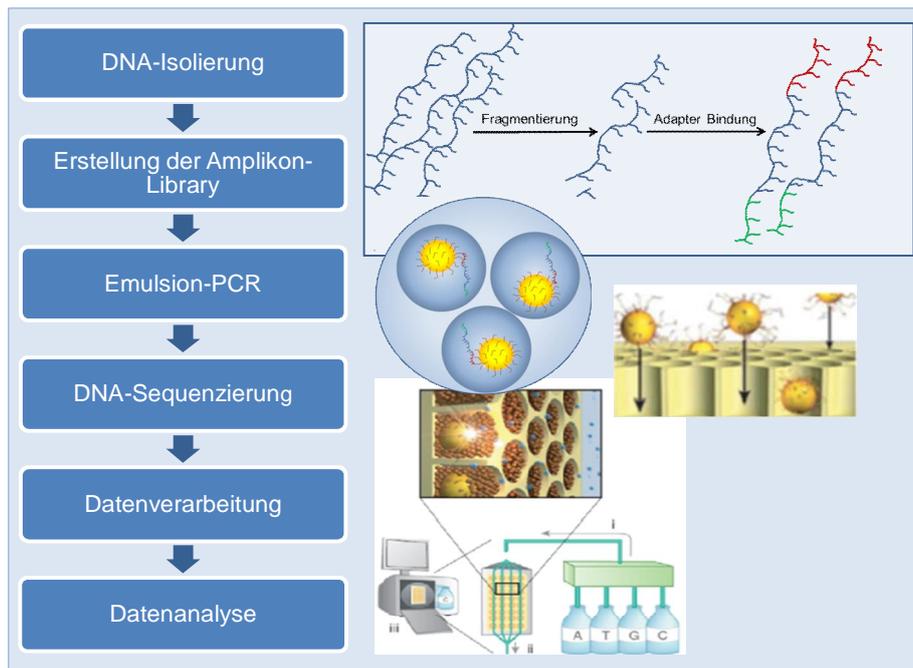


Abb. 3.6 Schematische Darstellung des Ablaufes der 454-Sequenzierung, modifiziert nach Margulies et al. (2005).

DNA-Isolierung aus Faeces Proben

Bevor die ersten Arbeitsschritte für die 454-Sequenzierung erfolgen konnten, wurde die bakterielle DNA aus den Faeces-Proben isoliert. Die Wahl der Methode zur DNA-Isolierung nimmt eine Schlüsselrolle in der Analyse des Darm-Mikrobioms ein. Um eine qualitativ hochwertige DNA gewinnen zu können, wurden vorab fünf verschiedene Methoden zur bakteriellen DNA-Isolierung aus Faeces-Proben getestet. Davon vier Kits: PowerSoil DNA Isolation Kit (MOBIO 12888-50), PowerFecal DNA Isolation Kit (MOBIO, 12830-50), QIAamp® DNA Stool Mini Kit (QIAGEN 51504), Nucleospin® Soil (MACHEREY-NAGEL, 740780.50) und ein Protokoll aus dem Labor von Thomas Clavel, Lehrstuhl für Ernährung und Immunologie, der Technischen Universität München. Jede Methode wurde mit mindestens zwei gleichen Proben getestet und die Probeneinsatzmengen zwischen 100 bis

250 mg variiert. Die verschiedenen Methoden wurden in den Punkten DNA-Gehalt, Zeitaufwand, Handhabung, Kosten und DNA-Qualität miteinander verglichen (Anhang: Tab. 8.2). Die Quantität der isolierten DNA wurde mittels eines Spektralphotometers (Epoch, Biotek, Vermont, USA) ermittelt. Mit diesem Gerät kann auch die Qualität der DNA bestimmt werden. Anhand des Verhältnisses Nukleinsäure-Absorption (260 nm) zur Protein-Absorption (280 nm) kann die Reinheit der DNA berechnet werden. Damit können Rückschlüsse auf den Grad der Verunreinigung der DNA gezogen werden. Ein Verhältnis von 1,8 oder weniger, kennzeichnet ein ausreichend reines DNA-Eluat. Wenn die Probe mit RNA kontaminiert ist, kann anhand der spektrometrischen Analyse keine Aussage über den DNA-Gehalt getroffen werden. Um falsch positive DNA-Gehalte auszuschließen, wurden die Proben auf ein Agarose-Gel aufgetragen und mit Ethidiumbromid eingefärbt. Dadurch kann die DNA-Menge quantifiziert werden. Diese Methode wurde in dieser Arbeit auch zur Überprüfung der Amplifikate nach einer PCR verwendet und wird später in diesem Kapitel genauer erläutert. Bei dem Vergleich der fünf Methoden mittels der zuvor aufgelisteten Kriterien erwiesen sich das PowerFecal DNA Isolation Kit, wie auch das Nucleospin® Soil Kit als am geeignetsten. Nachdem das PowerFecal DNA Isolation Kit mit einem etwas abgewandelten Protokoll bei dem Human Microbiome Project eingesetzt wird, wurde es auch für diese Analysen ausgewählt. Es zeigte sich als effizienter, eine Probenmenge von 100 mg statt 250 mg einzusetzen. Die Faeces-Proben wurden mit einer Einwaage von mindestens 100 mg bis maximal 120 mg in 2 ml Eppendorf Tubes bei -80°C bis zur DNA-Isolierung aufbewahrt. Bevor das Probenmaterial in spezielle Röhrchen, den Bead Tubes überführt wurde, kamen die Proben für ca. 60 Sekunden in flüssigen Stickstoff und wurden anschließend mehrmals auf einen harten Untergrund geschlagen. Dies verbessert die Überführbarkeit der Proben und steigert mechanisch den Zell-Aufschluss. Die weiteren Schritte erfolgten laut Protokoll des PowerFecal DNA Isolation Kits.

Erstellung der Amplikon Library

Unter einer Amplikon Library versteht man eine Vielzahl verschiedener Amplikons, die mittels PCR erzeugt und mit bestimmten Adaptersequenzen am 5'-Ende versehen werden. Die Adaptersequenzen sind für die spätere Bindung der Sequenzierprimer und die darauffolgende Qualitätskontrolle (Key-Sequenz) und evtl. Zuordnung der Amplikons zu bestimmten Probengruppen (Multiplex Identifier: MIDs) unerlässlich. Es gibt unterschiedliche Typen der Library Herstellung. Von der Firma Roche werden prinzipiell zwei Möglichkeiten vorgegeben, wie Adaptersequenzen zu der Ziel-DNA hinzugefügt werden

können. Das Anfügen der Adaptersequenzen kann über eine Random-Ligation (Zufalls-Anlagerung) nach oder während der Amplifikation der Zielregion erfolgen. Hierzu werden entsprechend synthetisierte Fusionsprimer verwendet, bei denen die Adaptersequenz (inklusive Key-Sequenz und evtl. MID) am 5'-Ende an die template-DNA bindenden Region hinzugefügt wurde. Dadurch trägt nach der Polymerasekettenreaktion (PCR) jedes Amplifikationsprodukt die gewünschte Sequenz. Bei dieser Arbeit kam die zweite Methode zur Erzeugung der Amplicon Library zum Einsatz, da diese Variante besonders bei Verwendung von Multiplexansätzen die kostengünstigere und schnellere Methode darstellt. Durch die Primerwahl kann die Sequenzierungsrichtung festgelegt werden. Die Erstellung der Amplicon Library ist in drei Schritte unterteilt: die Amplicon Herstellung mittels PCR, die Reinigung der Library und die Quantifizierung (Abb. 3.7).



Abb. 3.7 Erstellung einer Amplicon Library.

Ein Amplicon besteht demnach aus einer Adapter-A-Sequenz am 5'-Ende, gefolgt von einer Key-Sequenz, dem Insert und aus einer Adapter-B-Sequenz am 3'-Ende. Der prinzipielle Aufbau einer Library ist in Abb. 3.8 dargestellt.

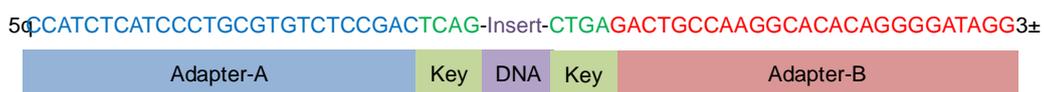


Abb. 3.8 Sequenz einer Amplicon-Library.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein Vorwärts-Primer bestehend aus einer 4:1 Mischung von 8F-YM-B (5'-CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGAGAGTTTGATY MTGGCT CAG-3') und 8F-BIFIDO-B (5'-CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGAGGGTT CGATTCTGGCTCAG-3') in Kombination mit dem Rückwärts-Primer 518R-A (5'-CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAGBBBBBBBBBBATTACCGCGGCTGCTG G-3') verwendet (Werner et al., 2011). Die Anzahl an möglichen Reads pro Region war viel größer, als die Zahl der benötigten Sequenzen für eine Probe. Dadurch konnten mittels sogenannter MIDs mehrere Proben zusammen auf der gleichen Region sequenziert werden. MIDs stellen einen DNA-Barcode (BBBBBBBBBB) dar, mit dem die erzeugten Sequenzen den unterschiedlichen Libraries zugeordnet werden können. Es kamen 10 verschiedene MIDs der Firma Roche zum Einsatz, deren Sequenzen aus 10 Basen bestehen und auf die Key-

Sequenzen in einer Library folgen (Abb. 3.9). Da es sich bei dem Vorwärtsprimer um eine Mischung aus verschiedenen Einzelprimern handelte, war es in diesem Fall kostengünstiger den Rückwärtsprimer mit den unterschiedlichen MIDs zu versehen. Dementsprechend wurde auch der Adapter-A an den Rückwärtsprimer angehängt und der Adapter-B an den Vorwärtsprimer.

5'-**CTGACGGTTCCGTGTGTCCCTATCCCTGA**-Insert-**ACTATGCAGA-CTGAGGTAGAGTAGGGACGCACAGAGGCTG**3±



Abb. 3.9 Sequenz einer Library mit Multiplex Identifier. MID: Multiplex Identifier

Polymerasekettenreaktion

Zur Erstellung der Amplikon Library wurde eine PCR durchgeführt, in der einzelne DNA-Fragmente mit Adapter-A und Adapter-B Sequenzen versehen werden.

Der PCR-Reaktionsansatz besteht aus folgenden Komponenten des Fast Start High Fidelity PCR Systems:

- Reaktionspuffer 5 µl
- dNTP Mix (8 mM) 2,5 µl
- Primer F (10 µg/ml) 1 µl
- Primer R (10 µg/ml) 1 µl
- Taq-Polymerase (5 U/ µl) 0,25 µl
- Mit Nuklease freiem Wasser auf 25 µl auffüllen.

Um die optimalen Einstellungen für die Annealingtemperatur, Anzahl der Zyklen und die Menge an eingesetzter DNA zu ermitteln, wurden eine Vielzahl von PCRs mit Variationen in den in Tab. 3.4 aufgeführten Parameter durchgeführt.

Tab. 3.4 Variationen verschiedener Parameter der PCR

Phase	Temperatur (°C)	Zeit (s)	Zykluszahl
1. Vordenaturierung	94	180	
2. Denaturierung	94	30	
3. Annealing	48 - 50	45 - 50	23-25
4. Elongation	72	60	
5. Finale Elongation	72	120-480	
6. kühlen	8		
Menge Template-DNA (ng/ µl)		1 - 20	

Ziel ist es mittels PCR eine ausreichende Menge an Amplifikaten mit 10^{10} bis maximal 10^{12} Molekülen QIAamp pro Ansatz zu erhalten. Die ermittelten optimalen Bedingungen sind in folgender Tabelle aufgelistet:

Tab. 3.5 Optimiertes PCR-Programm

Phase	Temperatur (°C)	Zeit (s)
Vorabdenaturierung	94	180
Denaturierung	94	30
Annealing	50	45
Elongation	72	60
Finale Elongation	72	480
kühlen	8	

Die final eingesetzte Menge an DNA-Template variierte je nach Probe zwischen 1 ng/ l bis 5 ng/ l. Nach Ablauf des Programms wurde mit jeweils 5 l PCR-Ansatz auf 1 bis 2 %-igen Agarosegel eine Gelelektrophorese durchgeführt und die DNA unter UV-Licht bei 254 nm mit Hilfe des DNA bindenden Farbstoffs Ethidiumbromid sichtbar gemacht (Abb. 3.10).

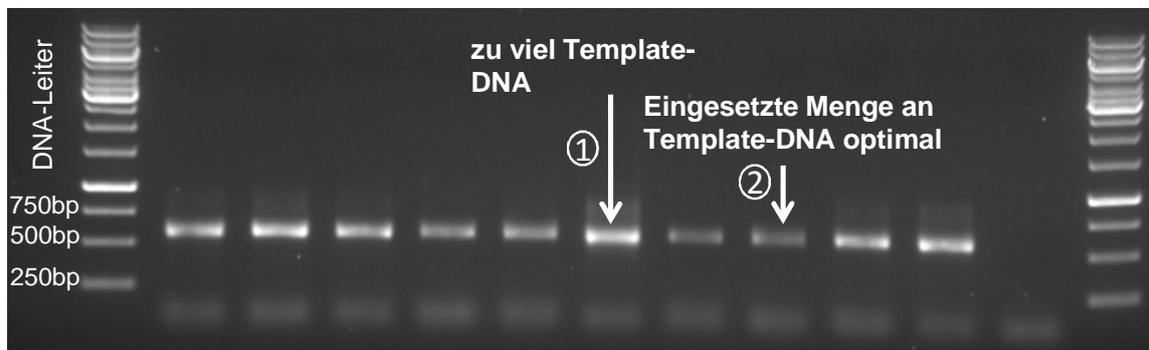


Abb. 3.10 Auftrennung der DNA-Banden im UV-Licht nach einer Gelelektrophorese. 1. Starke DNA-Bande: eingesetzte Template-DNA-Menge war zu hoch. 2. Schwache DNA-Bande: optimal eingesetzte Template-DNA-Menge für die Erstellung der Amplikon Library.

Optimale Bedingungen bei der PCR sowie eine ausreichende Menge an eingesetzter DNA liegen vor, wenn wie in Abb. 3.10 dargestellt, nur eine DNA-Bande im UV-Licht auf dem Agarosegel zu erkennen ist, die in ihrer Stärke etwa der 750 bp Bande der verwendeten DNA-Leiter entspricht. Bei gleich aufgetragenen Volumina von PCR-Ansatz und Leiter ergibt sich eine DNA-Konzentration von ca. 5 ng/ μ l im PCR-Ansatz. Dies entspricht bei einem 25 μ l Ansatz einer Amplifikatzahl von 2×10^{11} und liegt exakt im erforderlichen Rahmen. Um den zufälligen Bias der PCR möglichst gering zu halten, wurden für jede DNA-Probe jeweils 3 Amplikon Libraries erstellt und anschließend in einer Probe vereinigt.

Library Reinigung

Im nächsten Schritt wurde die Amplikon Library gereinigt, indem kurze DNA-Fragmente und ein Überschuss an Primern entfernt wurden. Die Entfernung der kurzen DNA-Fragmente aus der Amplikon Library erfolgte mittels AMPure-Beads (Agencourt, BECKMAN COULTER, Krefeld, Deutschland). AMPure-Beads sind magnetische Beads, die nur an Amplikons größer als 100 Basenpaare (bp) binden.

Mit Hilfe eines magnetischen Partikel-Kollektors wurden die zu kurzen DNA-Fragmente von den restlichen getrennt und anschließend entfernt. Der schematische Ablauf der Aufreinigung ist in Abb. 3.11 dargestellt.

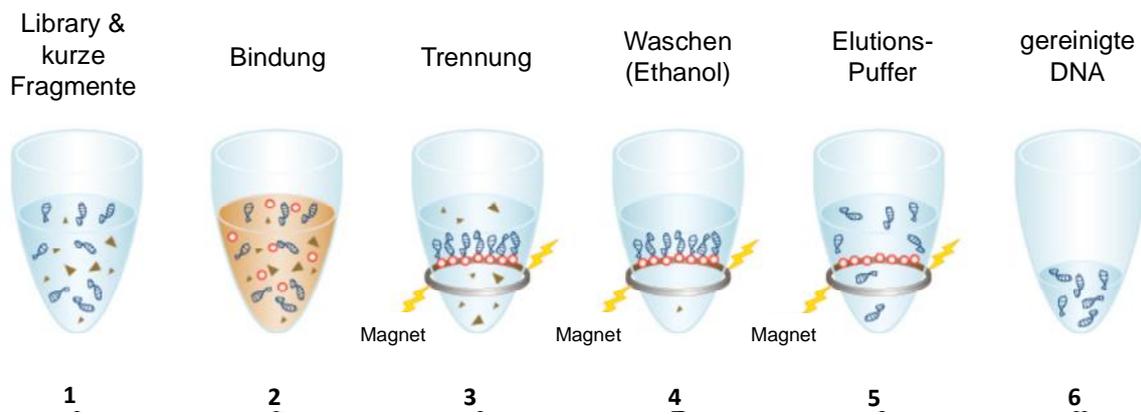


Abb. 3.11 Schematischer Ablauf der Aufreinigung der Amplikon Library, modifiziert nach (BECKMANN COULTER, 2012).

Die Qualität und damit der Erfolg der Aufreinigung der Amplikon Library wurde anhand des Bioanalyzers von Agilent (Agilent 2100 Bioanalyzer, Agilent Technologies, Santa Clara USA) überprüft. Unter Einsatz des Kits Agilent DNA 7500 konnte mit diesem Gerät mit einem sehr geringen Probeneinsatz von nur 1 µl eine Elektrophorese zur Analyse der DNA-Fragmente durchgeführt werden. Zwei typische Konzentrationsprofile einer Amplikon Library auf einem 7500 DNA-Chip sind in Abb. 3.12 dargestellt. Eine Amplikon Library sollte zwischen 500 und 800 bp liegen. In Abb. 3.12A sind die DNA-Marker (jeweils am Anfang und am Ende des Graphen) und die Amplikon Library, die etwa bei 600 bp liegt, zu sehen. Die Aufreinigung dieser Probe war erfolgreich und konnte weiter bearbeitet werden. Dagegen ist in Abb. 3.12B eine weitere Kurve, die aus kurzen Fragmenten zwischen 50 und 100 bp besteht, zu sehen. Diese kurzen Fragmente sind vermutlich Primer-Dimere. Für ein optimales Sequenzierergebnis wird empfohlen, Proben mit kurzen Fragmenten, nochmals neu aufzureinigen.

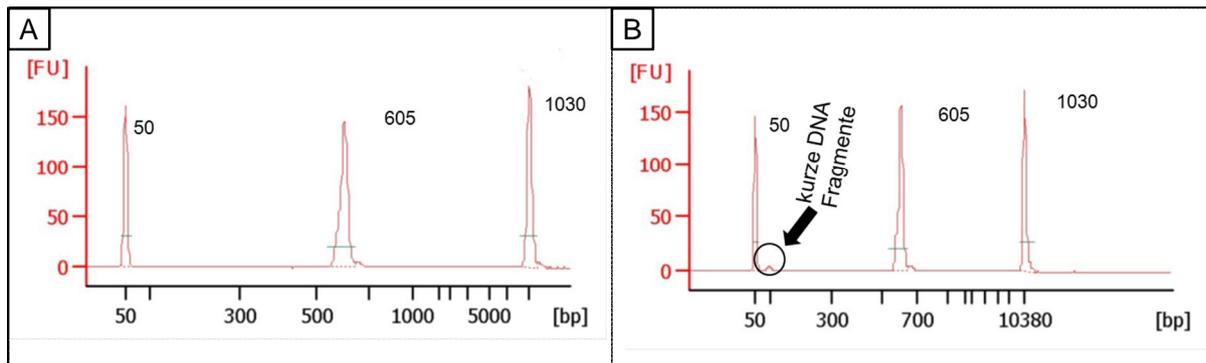


Abb. 3.12 Quantitätskontrolle der Amplikon Library mittels Bioanalyser. Keine kurzen DNA-Fragmente mehr vorhanden, optimale Aufreinigung (A). Kurze DNA-Fragmente detektierbar, Aufreinigung sollte wiederholt werden (B).

Library Quantifizierung

Im nächsten Schritt wurde das aufgereinigte PCR-Produkt mit Hilfe des PicoGreen dsDNA Quantitation Kits (Invitrogen) quantifiziert.

Das Prinzip beruht auf der Eigenschaft, des Farbstoffs PicoGreen, welcher hochselektiv an doppelsträngige DNA, jedoch nicht an RNA oder einzelsträngige DNA bindet. Die Durchführung erfolgte mit wenigen Ausnahmen analog zum Amplikon Library Protokoll von der Firma Roche (Anhang 6). Für die Erstellung einer Standardkurve wurde zunächst von der mitgelieferten -DNA mit TE-Puffer eine Stammlösung angefertigt. Von dieser Stammlösung wurde eine Verdünnungsreihe (0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25 und 50 ng/ l) hergestellt und alle zu messenden DNA-Proben mit TE-Puffer verdünnt. Sowohl die DNA-Standards, als auch die Proben wurden in eine 96-Loch-Fluorometerplatte (μ l Clear Platte) vorgelegt. Anschließend wurde mit der PicoGreen-Lösung überschichtet und fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Messung der Konzentration erfolgte mit Hilfe eines Spektralfluorometers (Spectra Max GeminiEM, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA). Die Konzentration der einzelnen Proben wurde anhand der Regressionskurve der DNA-Standards bestimmt. Zu beachten war, dass der Korrelationskoeffizient (R-Wert) bei mindestens 0,98 liegen sollte. Für alle Proben wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die Abweichung beider Proben betrug nicht mehr als 10 %. Die Quantifizierung aller Proben ergab, dass der DNA Gehalt in den einzelnen Proben zwischen 3,5 ng/ l und 24 ng/ l lag.

Amplikon Verdünnung und Pooling

Um einen erfolgreichen Sequenzierlauf durchführen zu können, musste sichergestellt werden, dass in der emPCR genau ein Library-DNA-Molekül an einem Capture-Bead amplifiziert wird. Ist zu wenig DNA vorhanden, so verringert das die Ausbeute an Beads, die das

gewünschte Amplifikationsprodukt tragen. Kommen dagegen zu viele Library-DNA-Moleküle auf ein Capture-Bead, so verschlechtert dies das Ergebnis eines Sequenzierlaufes. Dies ist durch Mischsequenzen bedingt, die entstehen, wenn Capture-Beads mehr als ein Amplifikationsprodukt tragen und dadurch beim späteren Filtering aussortiert werden. Ziel ist es, ein ideales Verhältnis zwischen Library-DNA und der Anzahl an Capture-Beads zu finden. Um das ideale Verhältnis bestimmen zu können, muss zuerst die Molekülkonzentration errechnet werden. Dafür wird die Konzentration (Masse pro Volumen) und Grö enverteilung benötigt. Die gewünschte Konzentration in Molekülen / l ergibt sich aus folgender Formel:

$$\text{Moleküle}/\mu\text{l} = \frac{\text{Probenkonzentration} \left[\frac{\text{ng}}{\mu\text{l}} \right] * 6,022 * 10^{23}}{(328,3 * 10^9) * 2 * \text{Fragmentlänge [bp]}}$$

Die Formel beinhaltet die Avogadro-Konstante $6,022 \times 10^{23}$ (Moleküle/mol) und das durchschnittliche Gewicht eines Nukleotids 328,3 (g/mol), sowie die durchschnittliche Fragmentlänge (bp). Da bei der Amplikon Library nur ein Strang des doppelsträngigen PCR-Produktes sequenziert wird, wird die Konzentration (Moleküle/ l) halbiert.

Im nächsten Schritt werden die einzelnen DNA-Libraries auf 1×10^9 Moleküle/ l in 1 x TE-Puffer verdünnt. Danach werden jeweils 10 Amplikons mit unterschiedlichen MIDs zu einem Pool vereint, indem von jedem der 10 Libraries je 10^{-1} der 1×10^9 Molekülen/ l zusammengeführt werden. Der Pool wird anschlie end auf 1×10^7 Molekülen/ l verdünnt.

Emulsions-PCR

Die folgenden Arbeitsschritte wurden nach dem Protokoll der Firma Roche für unidirektionales Sequenzieren (emPCR Method Manual; Lib-L SV) durchgeführt. Durch die Zugabe von Öl zu dem Titrationsansatz entsteht bei der Emulsions-PCR (emPCR) eine Wasser in Öl Emulsion. Es bilden sich Tröpfchen, die als kleine PCR-Reaktionsräume dienen. Zu der Amplikon Library werden neben den Komponenten des PCR-Mixes, die Capture-Beads gegeben. Diese Beads tragen auf ihrer Oberfläche Oligonukleotide, welche komplementär zu den Adapter-B-Sequenzen der 3'-Enden der Libraries sind (Abb. 3.13A). Die Oligonukleotide sind über Hexa-Ethylen-Glycol-Spacer mit den Capture-Beads verbunden. Die Basis für die Capture-Beads ist Sepharose (Margulies et al., 2005).

Ein ideales Verhältnis zwischen Library-DNA und der Anzahl an Capture-Beads liegt vor, wenn während der emPCR nur ein DNA-Molekül am Capture-Bead amplifiziert wurde (monoklonale Amplifikation; Abb. 3.13B). Das Verhältnis zwischen Library-Molekülen und Capture-Beads wird als cpb-Zahl (copy per bead) bezeichnet. Die Einstellung der idealen cpb-

Zahl muss anhand von Titrations experimentell ermittelt werden. Das bedeutet, dass in kleinen Volumina mehrere emPCRs mit verschiedenen DNA-Konzentrationen der Library und anschlie endem Beadrecovery durchgeführt werden. Am Ende der Beadrecovery ist es über die Enrichment-Rate möglich, Rückschlüsse auf die Qualität der emPCR zu ziehen.

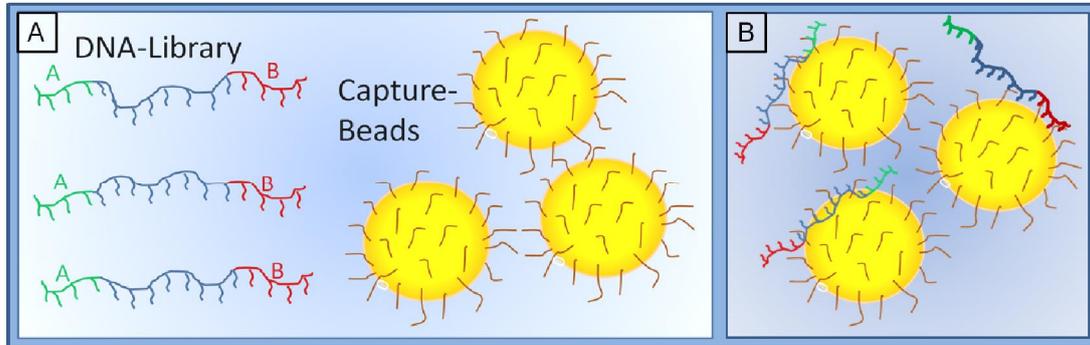


Abb. 3.13 DNA Library und Capture-Beads (A). Ein DNA-Strang gebunden an jeweils ein Capture-Bead (B).

In dieser Arbeit wurden Titrationsansätze mit cpb-Zahlen von 0,5; 1; 1,2; 2; 3; 4; 5; 12 und 18 durchgeführt. Die cpb-Zahl, die die besten Ergebnisse im Beadrecovery erzielte, wurde anschließend für einen gro en Ansatz verwendet. Während der emPCR kommt es zum Annealing des 3'-Endes der DNA-Library an der Adapter-B-Sequenz mit dem komplementären Oligonukleotid des Capture-Beads (Abb. 3.14A). Das Oligonukleotid dient als Primer für die PCR. Es findet eine Elongation statt, sodass der Gegenstrang, der am Library-Molekül aufgebaut wurde, mit dem Capture-Bead verbunden ist. Damit ist eine exponentielle Vervielfältigung während der emPCR gewährleistet. Nach 50 Zyklen und etwa sechs Stunden ist die emPCR abgeschlossen (Abb. 3.14B). Während dieses Prozesses werden ca. 1 bis 5×10^7 Kopien der Library pro Bead gebildet (Margulies et al., 2005).

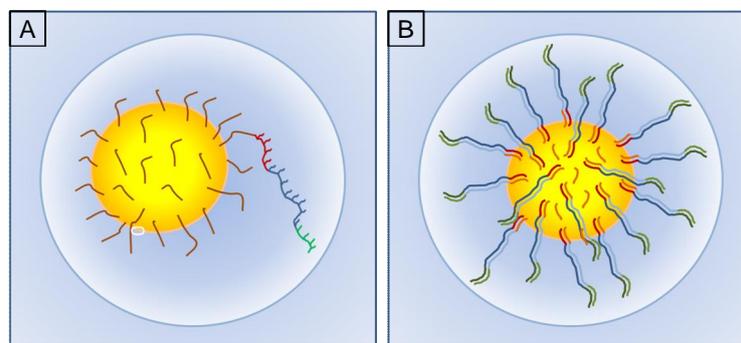


Abb. 3.14 Amplifizierung der Capture-Beads. Bildung der Library Capture in einer Wasser in Öl Emulsion (A). Capture-Bead mit PCR-Amplifikaten (B).

Beadrecovery

Das Beadrecovery beinhaltet verschiedene Aufreinigungsschritte. Primär müssen die Capture-Beads mit ihren Amplifikationsprodukten von dem Öl der emPCR, sowie den dort eingesetzten Nukleotiden, Puffern und Enzymen getrennt werden. Die Wasser in Öl Emulsion wird dafür in mehreren Prozessschritten aufgebrochen und von den unerwünschten Substanzen gereinigt. Mit Hilfe einer Denaturierung liegen die Amplifikate nur noch einzelsträngig an den Capture-Beads gebunden vor. Ungebundene DNA-Stränge werden entfernt. Nach der Messung der Anzahl der enthaltenen Beads mit einem Bead Counter (Coulter Counter, Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland) wird eine sogenannte Beadrecovery-Rate berechnet. Dabei wird die Anzahl der enthaltenen Beads durch die Zahl der ursprünglich eingesetzten Capture-Beads geteilt. Etwa 80 bis 85 % der Beads können laut der Firma Roche bei einer gelungenen Aufreinigung zurückgewonnen werden. Mit Hilfe dieser Rate sind Rückschlüsse auf die Qualität der durchgeführten Aufreinigungsschritte möglich.

Unter Einsatz von Enrichment-Beads wurden nun die Capture-Beads mit nur wenigen oder keinen Amplifikationsprodukten entfernt. Enrichment-Beads sind magnetisch und mit Streptavidin überzogen. Mit Hilfe von Biotin markierten Primern konnten sich Capture-Beads mit ausreichenden Amplifikationsprodukten an die Enrichment-Beads binden. Diese Primer sind komplementär zum Adapter-A der Amplifikate an den Capture-Beads. Die Capture-Beads, die keine oder nur wenige Amplifikationsprodukte trugen, konnten durch Waschschriffe mit einem magnetischen Partikel-Kollektor entfernt werden (Abb. 3.15). Die Trennung der Enrichment-Beads von den so aufgereinigten Capture-Beads erfolgte mittels einer basischen Denaturierung. Anschließend wurde der Sequenzierungsprimer an den Adapter-A der einzelsträngigen Amplifikate der Capture-Beads gebunden. An dieser Stelle erfolgte die Berechnung der Enrichment-Rate, indem mit einem Bead Counter nochmals die Anzahl der Beads ermittelt wurde, um sie dann mit der Anzahl der zuvor gezählten Beads ins Verhältnis zu setzen. Die Enrichment-Rate sollte in einem Bereich von 8 bis 20 % liegen. Eine zu niedrige Rate weist darauf hin, dass zu wenige Beads für die Sequenzierung generiert wurden. Die Ursache einer höheren Enrichment-Rate kann sein, dass es mehr als ein DNA-Molekül pro Capture-Bead gab. Diese Beads wirken sich negativ auf den Sequenzierlauf aus, da die resultierenden Mischsequenzen verworfen werden müssen.

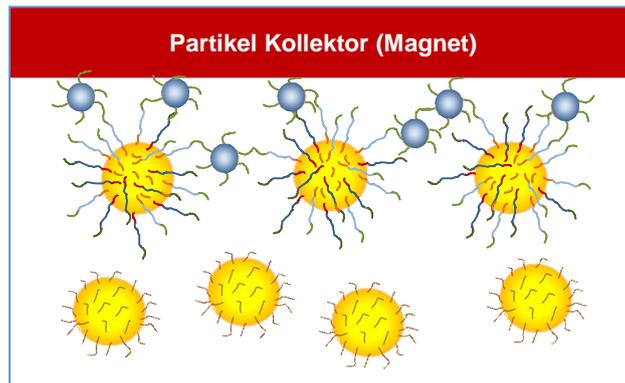


Abb. 3.15 Aufreinigung der Library durch Entfernung der Capture-Beads mit nur wenigen bzw. keinen Amplifikationsprodukten. Magnetische Enrichment-Beads (blau) binden über Biotin Linker mit Adaptor-A Sequenzen an die Amplifikationsprodukte. Ein magnetischer Partikel-Kollektor bindet die Enrichment-Beads, während die Capture-Beads mit nur wenigen oder keinen Amplifikaten aus der Lösung gewaschen werden können.

454-Pyrosequenzierung

Das Prinzip der Pyrosequenzierung beruht auf der Freisetzung von Pyrophosphat (PPi) während der DNA-Strangsynthese. Da das Bestimmen der Basen während des DNA-Strangaufbaus stattfindet, ist das Pyrosequenzieren eine „Sequencing by Synthesis“-Methode. Die einzelnen Arbeitsschritte für diese Methode erfolgten nach dem Protokoll der Firma Roche (Sequencing Method Manual for the GS FLX + Instrument).

Um die Sequenzierreaktionen, die auf der Solid-Phase-Technologie basieren, zu separieren, entwickelte die Firma Roche eine Platte bestehend aus Millionen winziger Reaktionsräume (Wells), genannt Picotiterplatte (PTP) (Margulies et al., 2005). Die hier verwendeten 75 mm x 75 mm großen Titanium-PTPs besitzen 3,4 Mio. Wells, die 34 µm tief sind und einen Durchmesser von 29 µm haben. Mit dem Titanium-PTP können zwischen 800.000 bis 1,2 Mio. Reads mit einer durchschnittlichen Länge von 400 bp pro Lauf generiert werden. Dabei sind Leseweiten bis zu 700 bp möglich (Sciences, 2013).

Bevor die Beladung der Platte beginnen konnte, wurden zuerst die im Beadrecovery präparierten Capture-Beads mit einer Polymerase inkubiert, damit sich diese an den doppelsträngigen Bereich der Capture-Beads anlagern konnten. In dieser Arbeit wurde die PTP in 4 Regionen von den 2 bis 16 möglichen Regionen unterteilt. Schließlich erfolgte die Beladung der PTP mit vier verschiedenen Bead-Mischungen. Die erste Schicht bestand aus Enzym-Beads, die mit Luciferase und ATP-Sulfurylase beladen war. In der nächsten Schicht befand sich die DNA in Form der Capture-Beads zusammen mit sogenannten Packing-Beads. Deren Aufgabe bestand in der Fixierung der Capture-Beads in den PTP-Wells. Zusätzlich waren Control-Beads, mit bekannter Sequenz, ein Bestandteil dieser Schicht. Diese von der

Firma Roche hergestellten Beads dienten zur späteren Qualitätsbewertung des Sequenziervorgangs. Bei der Zentrifugation dieser Schicht gelangten aufgrund ihrer Größe immer nur ein Capture-Bead bzw. ein Control-Bead zusammen mit einer größeren Zahl Packing-Beads in ein Well. Die nächste Schicht besteht nochmals aus Enzym-Beads und die letzte Schicht beinhaltet PPIase-Beads. Diese bauen in der obersten Schicht das überschüssige Pyrophosphat ab und verhindern dadurch die Übertragung von Pyrophosphat in andere Wells, was zu einer falschen Signalerzeugung führen würde (Shokralla et al., 2012, Margulies et al., 2005). Sobald die PTP vollständig beladen war, wurde sie aus der Beladungsstation entnommen und in den GS FLX + Pyrosequenzer eingelegt. Der Sequenziervorgang konnte gestartet werden.

Als erstes erfolgt bei dem Sequenziervorgang der Strangaufbau anhand der Matrize. Die beiden Enzyme Luciferase und ATP-Sulfurylase sowie jeweils einzeln die unterschiedlichen dNTPs werden nacheinander über die PTP gespült. Dieser Vorgang wird als dNTP-flow bezeichnet. Immer wenn ein Nukleotid komplementär zum Vorlagenstrang eingebaut wird, entsteht Pyrophosphat (PPi). Eine ATP-Sulfurylase wandelt PPi mit Adenosin-5'-Phosphosulfat in ATP um. In der Gegenwart von ATP wird Luciferin durch das Enzym Luciferase in Oxyluciferin umgewandelt, wobei Licht entsteht (Abb. 3.16). Die Intensität der Lichtblitze ist proportional zur Menge der eingebauten Nukleotide.

Die vier DNA-Bausteine Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin werden nacheinander zugegeben. Zwischen den einzelnen Nukleotidzugaben erfolgten Waschschrte mit Apyrase. Dieses Enzym reduziert die Hintergrundstrahlung, indem es unverbrauchte dNTPs und ATP in entsprechende Monophosphate umwandelt. Wenn der Matrizenstrang z. B. ein Adenin enthält, leuchtet das Well ausschließlich bei der Zugabe von Thymin auf. Danach erfolgte der nächste Sequenzierzyklus erneut mit den vier Zugabeschritten. Leuchtet der Lichtblitz, der z.B. bei der Zugabe von Guanin entsteht mit einer dreifach stärkeren Intensität, wie der Blitz im ersten Zyklus, dann lautet bis dahin die Sequenz 5'TGGG3'. Der Gegenstrang wird solange aufgebaut, bis entweder die Polymerase am Ende angekommen ist, oder vorher abbricht.

Das entstehende Licht auf der PTP wurde von einer Kamera aufgezeichnet und in einem sogenannten Pyrogramm als Peak dargestellt. Die Darstellungsform solcher Sequenzdaten ist in Abb. 3.17 gezeigt.

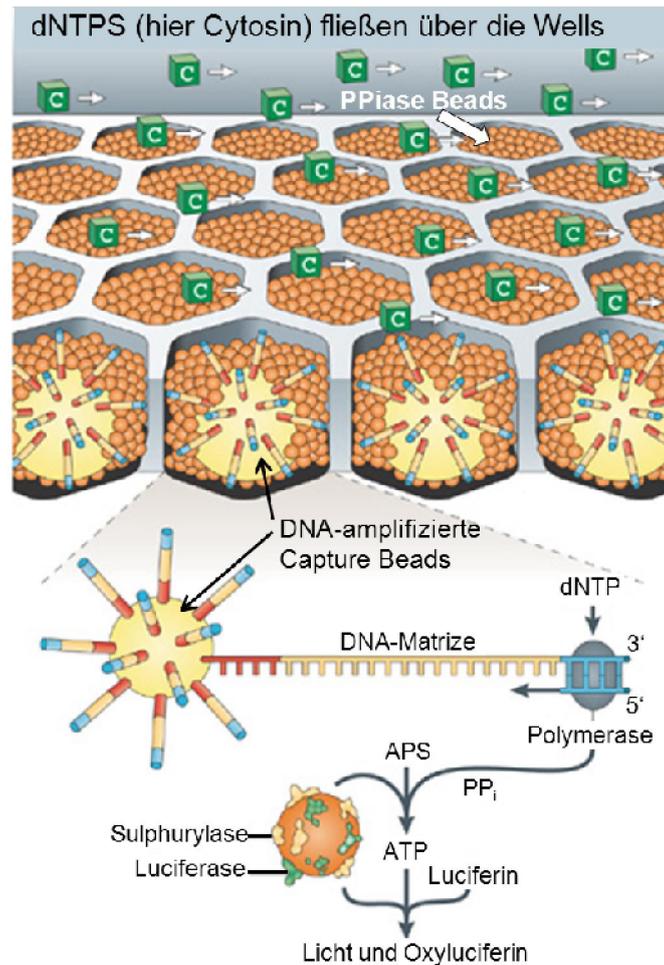


Abb. 3.16 Pyrosequenzierung: in nacheinander ablaufenden Zyklen fließen die verschiedenen dNTPs (hier Cytosin) über die Wells der PTP. Immer wenn ein Nukleotid komplementär zum Vorlagenstrang eingebaut wird, kann das dabei freigesetzte Pyrophosphat mit Hilfe eines in den Wells befindlichen Enzymsystems einen Lichtblitz erzeugen. APS: Adenosin-5'-Phosphosulfat, PP_i: Pyrophosphat, modifiziert nach Metzker (2010).

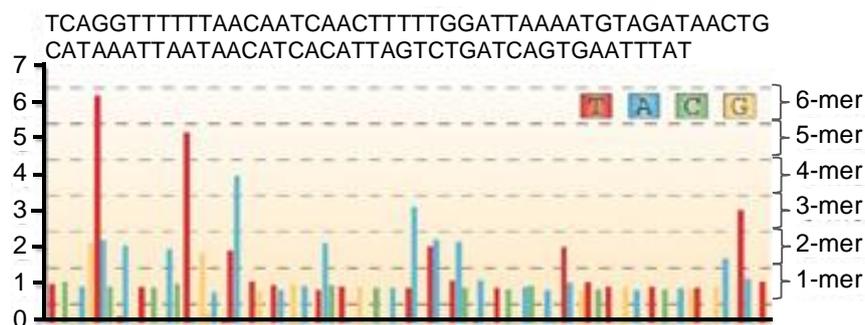


Abb. 3.17 Sequenzdaten einer Pyrosequenzierung : je nach Lichtintensität und eingebauten dNTPs wird eine Sequenz erstellt, modifiziert nach Metzker (2010).

Datenaufbereitung

Die Bilder die von der PTP bei jedem dNTP-Flow von einer Kamera aufgenommen wurden, produzieren eine umfangreiche Menge an Rohdaten. Die Auswertung und Speicherung stellt

eine große Herausforderung für die Bioinformatik dar. In den zwei folgenden Schritten wurden die Rohdaten mit Hilfe des GS Run Processors (Roche 454, 2009) weiter verarbeitet, bevor sie statistisch ausgewertet werden konnten.

Image Processing: Im ersten Schritt, dem *Image Processing*, wurden zuerst die Wells der PTP ermittelt, die mindestens ein Lichtsignal erzeugt haben. Jedes dNTP erzeugte eine Hintergrundstrahlung, die ermittelt und abgezogen wurde. Die Wells in der PTP, die ein Capture-Bead enthielten und damit auch ein Lichtsignal erzeugt hatten, werden als Raw-Wells bezeichnet. Somit ist auch die Summe aller Orte auf der PTP, die während des ersten Flows (Key-Flow) ein Lichtsignal erzeugt hatten, die Gesamtheit aller Raw-Wells. Die Signalinformationen der Key-Flows wurden für die weitere Bearbeitung für jedes einzelnen Raw-Wells in Form einer *composite well format*-Datei (cwf) gespeichert (Roche 454, 2009).

Signal Processing: Die im Image Processing produzierten Daten wurden in einem zweiten Schritt, dem *Signal Processing*, in Sequenzen umgewandelt. Die einzelnen Reads wurden normalisiert, korrigiert und zusätzlich wurden verschiedene Filterschritte durchgeführt. Nach dieser Qualitätsreinigung wurden die übriggebliebenen Reads für jedes Well in sogenannte *Flowgrams* umgeschrieben. Für jeden Read wurden Qualitätskennzahlen ermittelt und diese Daten als *Standard Flowgram Format* (SFF) abgespeichert. Die folgenden Qualitätsschritte sind in Abb. 3.18 dargestellt.

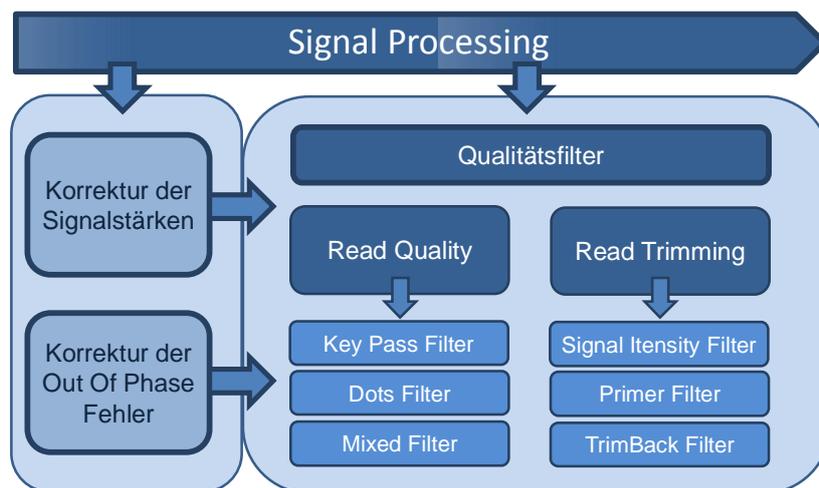


Abb. 3.18 Qualitätsschritte während des Signal Processing.

Korrektur der Signalstärken: Der Einbau der verschiedenen dNTPs konnte durch verschiedene Ursachen zu nicht einheitlichen Signalen führen. Eine Ursache konnte ein zu starkes Signal sein. Dieses konnte einerseits von z.B. mehreren Amplifikationsprodukten an einem Capture-Bead oder andererseits durch homopolymere Bereiche (CGCCCCACT)

entstehen. Weiterhin konnten auch beim Fluss der Substrate v.a. am Ende der PTP zu schwache Signale entstehen. Dieser Qualitätsschritt diente zur Normalisierung der uneinheitlichen Signale.

Out Of Phase Fehler: Als nächstes wurden Fehler, die durch Synchronitätsverluste an den Capture-Beads entstanden, ermittelt und korrigiert. Diese sogenannten „Out of Phase Fehler“ konnten in „Carry Forward“ und „Incomplete Extension“ unterteilt werden. Der „Carry Forward“ Effekt trat auf, wenn es durch Reste von dNTPs nach dem Apyrasewaschschritt zu einem vorzeitigen Nukleotideinbau an amplifizierten Strängen der Capture-Beads kam. Bei der „Incomplete Extension“ wurden dagegen an manchen Stellen keine dNTPs eingebaut. Dies konnte auch durch eine geringere Substratkonzentration am Ende der PTP verursacht worden sein. Sequenzen, die nach diesen Schritten noch bestanden, werden als echte Sequenzen beschrieben. Die Qualität dieser echten Sequenzen variierte zu diesem Zeitpunkt noch stark. Um Sequenzen mit hoher Qualität selektieren zu können, wurden Qualitätsfilter für die einzelnen Signale verwendet. Diese ließen sich in Filter für die Lesequalität (Read Quality) und in Lese-Schneide-Filter (Read Trimming) unterteilen.

Read Quality Filter: Der „Key Pass Filter“ entfernte die Reads, die weder als Capture-Bead-Amplifikationsprodukt zu identifizieren waren, noch Kontroll-DNA der Control-Beads darstellten. Dies geschah über die Bestimmung einer 4 Basen langen Sequenz, genannt „Key“, die direkt auf die Adapter-Sequenz folgt.

Der „Dots Filter“ entfernte Reads mit zu vielen negativen Flows, d.h. Flows, bei denen der Lichtblitz fehlte und damit auch kein Basensignal vorhanden war. Drei negative Flows hintereinander entsprachen einem Dot. Wenn nach weniger als 84 Flows ein Dot auftrat, oder in einem Read mehr als 5 % der Flow Dots waren, dann wurden diese Reads als „Failed Dot“ entfernt.

Der „Mixed Filter“ entfernte sogenannte „Failed Mixed“ Reads. Diese lagen in einem Well vor, wenn entweder mehr als ein Capture-Bead, oder ein Capture-Bead mit mehr als einem Amplifikationsprodukt enthalten war, aber auch wenn das Well von dem Signal eines benachbarten Wells zu stark überstrahlt wurde.

Read Trimming Filter: Alle Reads, die die vorangegangenen Quality Filter erfolgreich passiert hatten, wurden noch durch drei „Trimming Filter“ gekürzt bzw. verworfen.

Zuerst verkürzte der „Signal Intensity Filter“ das 3'-Ende der Reads soweit, dass bei weniger als 3 % der Flows grenzwertige Signalintensitäten vorlagen. Reads, die nach dem Kürzen aus weniger als 40 bp bestanden, wurden als „Short-Quality“ herausgefiltert.

Der „Primer Filter“ entfernte kurze Reads, bei denen die Adapter-B-Sequenz identifiziert

wurde. Sank die Signalstärke zwischen z.B. zwei oder drei gleichen Basen nicht auf Null ab, dann wurden diese Signale als intermediäre Signale identifiziert (Borderline Valley Flow). Der Trim Back Filter bzw. der Valley Filter beschnitt oder entfernte Reads mit zu starker intermediärer Signalintensität. Lagen vermehrt intermediäre Signale vor, dann deutete das auf eine schlechte Read Qualität hin. Wenn mehr als vier Borderline-Valley-Flows innerhalb der ersten 320 Flows auftraten, dann wurde dieser Read als 'Short Quality' bezeichnet und entfernt (Roche 454, 2009).

Datenverarbeitung:

Diese Sequenzierung liefert eine Spezies-unabhängig skalierte Quantifizierung des Auftretens von operationalen taxonomischen Einheiten (Operational Taxonomic Unit: OTU). Die vorliegenden Sequenzen wurden mit der Software mothur v.1.29.2 bearbeitet und analysiert (Schloss et al., 2009). Das Rauschen der Reads wurde unterdrückt, sowie Barcodes, Primer und Sequenzen mit mehr als acht Homopolymeren entfernt. Bei einer minimalen Sequenzlänge von 200 bp wurden die Sequenzen abgeschnitten. Mit Hilfe der Silva SEED Referenzdatenbank wurden taxonomische Vergleiche durchgeführt und Chimäre mittels der uchime Anwendung entfernt (Edgar et al., 2011). In mothur wurden Vergleichsequenzen Anhand der Datenbasis des Ribosomalen-Databank-Projektes bezogen (Wang et al., 2007). Um alle Faeces-Proben vergleichen zu können, wurden Teilproben mit jeweils 7390 Sequenzen von jeder Probe erzeugt.

3.3.2 Genotypisierung von diabetes- und gewichtsassozierten SNPs bei Kindern

DNA-Isolierung aus Blutproben

Für die DNA-Präparation aus Vollblut bei den Kindern der prospektiven deutschen GDM-Studie wurde eine Aussalzungsmethode im Routinelabor des Instituts für Diabetesforschung durchgeführt. Das EDTA-Blut (ca. 10 ml) wurde nach Abtrennen des Plasmas in Zentrifugenröhrchen überführt und anschließend mit Erythrozytenlyse-Puffer (RCLB; 100 mM Tris, 50 mM MgCl₂, 100 mM NaCl, pH 7,6) auf 20 ml aufgefüllt. Das Gemisch musste auf dem Drehrad fünf Minuten lysieren und wurde danach zehn Minuten bei 640 g zentrifugiert. Nach dem Verwerfen des Überstandes wurde das Pellet wieder in RCLB gelöst. Dieser Waschschritt wurde ca. 7 bis 9 mal wiederholt. Im nächsten Schritt wurde ein weiterer Lyse-Puffer (NLB; 10 mM Tris, 400 mM NaCl, 2 mM EDTA) zugegeben und das Röhrchen gut geschüttelt. Nach dem Zugeben von PSB-Proteinase-K-Lösung (PSB: 1,0 % SDS, 2 mM EDTA; Proteinase K: Sigma Aldrich) und 200 µl 10 %-iger SDS-Lösung (Sigma Aldrich)

musste das Präparat bei 42°C im Wasserbad ca. 18 Stunden inkubieren. Im Anschluss wurde 1 ml NaCl (6 M) pro 4 ml DNA-Lösung hinzugegeben. Das Gemisch inkubierte nun 60 min bei 8°C. Nach Zentrifugation (30 min bei 1100 g) wurde der Überstand in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen überführt und mit 5 ml Isopropanol versetzt. Der DNA-Faden wurde anschließend mit einer Impföse aufgenommen und in 80 %-igen Ethanol zweimal gewaschen. Nach dem Trocknen (ca. 1 Stunde) wurde entsprechend der DNA-Menge TE-Puffer (1 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 8,0) zugegeben. Abschließend musste das DNA-Puffer-Gemisch ca. 2 Wochen bei 8°C quellen. Die DNA-Konzentrationsmessung erfolgte mit Hilfe eines Fotometers (UV-160A, Shimadzu, Kyoto, Japan).

Bestimmung von diabetes- und gewichtsassozierten SNPs bei Kindern

Eine Genotypisierung von diabetes- und gewichtsassozierten Genen bei Kindern der prospektiven deutschen GDM-Kohorte wurde für den *HHEX-IDE* Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) *rs10882102*, den *CDKAL1* SNP *rs10946398* und als Kontrolle für den diabetes- aber nicht gewichtsassozierten *SLC30A8* SNP *rs3802177* mit dem MassARRAY® System unter Verwendung der iPLEX® Chemie (Sequenom, San Diego, USA) in der Abteilung für molekulare Epidemiologie, am Helmholtz Zentrum München durchgeführt. Die isolierte DNA (gelöst in TE-Puffer) wurde in eine 96-Well-Mikroplatte (Thermo-Fast 96 PCR Plate Skirted, ABgene, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) überführt und mit SNP-spezifisch designten Primern in einer Multiplex-PCR amplifiziert. Die im folgendem durch allel-abhängige Einzelbasenverlängerung gewonnenen Produkte wurden mit einem Nanoliter Pipettier-System (SpectroCHIP, SpectroPOINT Spotter; Sequenom, San Diego, USA) auf einen 384-Element Chip geladen. Anschließend wurden die Proben mit einem Matrix-unterstützten Laser-Desorptions/Ionisations-Flugzeitmassenspektrometer (MALDI-TOF, Bruker Daltonik, Leipzig, Deutschland) analysiert. Die Peaks der resultierenden Massenspektren wurden mit der SpectroTYPER RT 3.4 Software (Sequenom, San Diego, USA) identifiziert. Um die Vergleichbarkeit zu kontrollieren, wurden 16,3 % der Proben in Duplikaten genotypisiert, die eine Diskordanzrate von weniger als 0,5 % aufwiesen.

3.4 Statistik

Die statistischen Auswertungen erfolgten je nach Analyseverfahren mit der Software „Statistical Package for the Social Sciences“ (SPSS Version 20/21; SPSS, Chicago, USA) für Windows, mit dem Statistical Analysis System (SAS) Version 9.1.3. (SAS Institute Inc.,

Cary, North Carolina, USA) und dem Statistik-Paket R, Version 3.1-104 (R Core Team, 2012). Wenn nicht anderes beschrieben, liegt für die Analysen das Signifikanzniveau bei 5 %, d.h. ein p-Wert $< 0,05$ wurde in den Analysen als statistisch signifikant angesehen.

3.4.1 Methoden zur Charakterisierung der Kohorten

Zur Beschreibung der Kohorten wurde, je nach Verteilung der Daten, der arithmetische Mittelwert (MW), die Standardabweichung (SD), der Median und das 95 % Konfidenzintervall verwendet. Des Weiteren erfolgte eine Angabe von absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten.

Überlebenszeitanalysen (Lifetable-Analysen) wurden genutzt, um das Risiko für die postpartale Diabetesentwicklung bei der prospektiven deutschen GDM-Studie zu berechnen. Es wurde die Therapie des GDMs während der Schwangerschaft (Insulin oder Diät), die Stilldauer (nicht gestillt, ≤ 3 Monate, > 3 Monate, nicht Vollgestillt), der BMI am Anfang der Schwangerschaft ($> 30 \text{ kg/m}^2$ oder $\leq 30 \text{ kg/m}^2$), der Inselautoantikörperstatus (positiv oder negativ) in der Studienpopulation analysiert. Anhand der Cox-Regressionsanalyse wurde in einem multivariaten Modell der Einfluss von verschiedenen Faktoren auf die postpartale Entwicklung von T2D ermittelt. Zu diesen Faktoren zählten: Insulintherapie während der Schwangerschaft, BMI am Anfang der Schwangerschaft, Stillen > 3 Monate, Alter der Mutter, Rauchen in der Schwangerschaft, Anzahl vorangegangener Schwangerschaften.

Um die Repräsentativität der POGO-GDM-Kohorte bewerten zu können, wurde die Soll-Verteilung in den BMI-Kategorien (Untergewicht: BMI $< 18,5$; Normalgewicht: $18,5$ bis < 25 ; Übergewicht: 25 bis < 30 ; Adipös: ≥ 30) einer GDM-Population mit Hilfe des Satzes von Bayes berechnet. Für die Berechnung der Prävalenz von GDM in den einzelnen Kategorien wurden die Daten des Pregnancy Risk Assessment Monitoring Systems (PRAMS $n=22767$) verwendet und für die Prävalenzen der BMI-Kategorien wurden die bayerischen Perinataldaten eingesetzt ($n=678560$) (Kim et al., 2010b, Beyerlein et al., 2010).

Die anthropometrischen Daten der Kinder wurden mit Daten von Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM der KiGGS-Studie ($n=415$) verglichen. Hierfür wurden alters- und geschlechtsspezifische Scores (Standard Deviation Scores: SDS) aus den Daten der Kinder von Müttern mit GDM der KiGGS-Studie gebildet (Gewicht, BMI und Hautfalten). Anhand dieses SDS-Wertes kann beurteilt werden, inwiefern der individuelle Wert, wie z. B. der BMI, vom durchschnittlichen alters- und geschlechtsabhängigen BMI abweicht (Neuhauser et al., 2011, Stolzenberg et al., 2007). Zur Beschreibung der Stärke des linearen Zusammenhangs zweier Merkmale wurde der Pearson-Korrelationskoeffizient verwendet.

3.4.2 Methoden zur Auswertung der Ernährungsdaten

Die Auswahl der statistischen Tests wurde in Abhängigkeit vom Skalenniveau der Variablen, des Vorliegens von normalverteilten Daten und abhängigen bzw. unabhängigen Stichproben vorgenommen (Bühl, 2006). Die Daten der Mütter wurden mittels Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet (Brosius, 2011). Die Daten der Energie-, Makronährstoff-, Ballaststoff- und Lebensmittelgruppenzufuhr wiesen nicht alle Normalverteilung auf. Die Darstellung der Daten erfolgt sowohl mit MW und SD als auch mit Median und dem Interquartilsabstand (IQR: 25. (P25) und 75. Perzentile (P75)) gezeigt. Des Weiteren erfolgt eine Angabe von absoluten (n) und relativen (%) Häufigkeiten.

Die Nährstoffzufuhr der Mütter wurde mit den DRW wie auch mit den Zufuhrmengen der NVS II anhand des Wilcoxon-Rangsummentests verglichen. Unterschiede in der Ernährung der Mütter hinsichtlich ihres postpartalen T2D-Risikos und ihrem sozioökonomischen Status wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Mit Hilfe der Bonferroni-Korrektur wurde für multiples Testen adjustiert (Abdi, 2007). Signifikante Ergebnisse liegen vor, wenn bei dem Vergleich zu den DRW $p < 0,05/28 = 0,0018$, bei dem Vergleich zu der NVS II $p < 0,05/23 = 0,0022$ und bei den Gruppenvergleichen $p < 0,05/19 = 0,0026$ ist. Der Zusammenhang zwischen dem postpartalen T2D-Risiko und dem sozioökonomischen Schichtindex wurde mit dem Chi-Quadrat-Test untersucht. Die lineare Regression wurde verwendet, um die Makronährstoffaufnahme (Protein, Fett, Kohlenhydrate) bezogen auf die Gesamtenergieaufnahme bei den jeweiligen Gruppen zu untersuchen.

3.4.3 Methoden zur Auswertung der Genotypisierung

Alle SNPs wurden mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests auf Abweichungen von dem Hardy-Weinberg-Gesetz getestet.

BMI-SDS, Gewichts-SDS und Größen-SDS wiesen unter der Verwendung des Kolmogorov-Smirnov-Tests eine Normalverteilung auf.

Allen Analysen wurde ein additives genetisches Modell zugrunde gelegt. Das heißt, genotypabhängige Effekte wurden als Effekte je Allel berechnet. Dazu wurden die SNPs *HHEX-IDE rs10882102*, *CDKAL1 rs10946398*, *SLC30A8 rs3802177* für die Anzahl an Risikoallelen kodiert.

Der Einfluss von T2D-assoziierten SNPs auf BMI-SDS, Gewichts-SDS und Größen-SDS wurde mithilfe von gemischten linearen Regressionsmodellen untersucht (Laird und Ware, 1982). Sowohl getrennte Modelle für jeden einzelnen SNP, wie auch multiple Modelle mit allen drei untersuchten SNPs, wurden unter Einschluss der Kovariablen LGA, mütterliche

Adipositas, Geschlecht und Alter gefittet. Der Einfluss von Genotypen auf die Geburtsgewichtszentilen wurde mittels linearer Modelle bestimmt.

Um Auswirkungen des *HHEX-IDE*-Risikoallels auf den BMI-SDS zu ermitteln, wurden gemischte lineare Regressionsmodelle, unter Berücksichtigung der Einflussfaktoren LGA, Adipositas der Mutter und kontinuierliches Alter, nach Alters-Terzilen untersucht (1. Terzil: 1,0-2,3 Jahre, 2. Terzil: 2,4-8,1 Jahre, 3. Terzil: 8,1-16,7 Jahre). Auf ähnliche Weise erfolgte eine Stratifikation nach maternaler Adipositas.

Die statistische Analyse wurde mit dem Statistik-Paket R, Version 3.1-104 durchgeführt (R Core Team, 2012).

Umgang mit fehlenden Daten:

Der Ausschluss von Probanden, bei denen nicht alle Daten für den vollständigen Beobachtungszeitraum vorlagen, ist kritisch und kann zu schweren Verzerrungen in den Effektschätzern führen. Um dies zu vermeiden wurden in dieser Untersuchung die fehlenden Daten sorgfältig behandelt.

Für fehlende Werte hinsichtlich Gewicht (28 Beobachtungszeitpunkte (BZP) von 10 Kindern), Größe (31 BZP von 10 Kindern), Geburtsgewichtszentilen (75 BZP von 30 Kindern) und mütterlicher BMI in der frühen Schwangerschaft (85 BZP von 35 Kindern) erschien die *missing completely at random* Annahme (d.h. die Annahme, dass die entsprechenden Werte völlig unabhängig von den Werten aller Kovariablen fehlen) unwahrscheinlich. Daher wurden fehlende Werte mittels *multiple imputation by chained equations* (kurz: MICE) imputiert, womit solchen Verzerrungen vorgebeugt werden konnte (Buuren und Groothuis-Oudshoorn, 2011). Alle Variablen und Interaktionsterme, die Teil der nachfolgenden Analysen waren, wurden als Kovariablen in der Imputation berücksichtigt. Im Anschluss wurden die Daten auf Plausibilität überprüft und widersprüchliche Daten korrigiert.

Alle beschriebenen Modelle wurden auf den imputierten Datensätzen gefittet und die Ergebnisse unter Verwendung der Kombinationsregeln von Rubin zusammengefasst (Rubin, 1987). Als Sensitivitätsanalyse wurden alle Analysen mit nur den vollständigen Beobachtungen wiederholt. Die Ergebnisse waren im Wesentlichen ähnlich zu den dargestellten Ergebnissen von den imputierten Daten und bestätigen somit deren Robustheit.

3.4.4 Methoden zur Auswertung der Mikrobiomdaten

Die Diversitäts- und Rarefaction-Schätzungen wurden mit Hilfe der Software mothur erstellt. Zur Sicherung der Datenqualität wurden für den Vergleich der bakteriellen Häufigkeiten alle Bakterien, deren Anzahl an Reads unterhalb einer Abundanz von 0,01 % lagen, ignoriert. Die Abundanz der Bakterien wurde normalisiert, um relative Häufigkeiten zu erhalten. Für den Vergleich der relativen Häufigkeiten zwischen zwei Gruppen wurden Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests berechnet. Um die Assoziation zwischen kontinuierlichen Meta-Variablen (wie z.B. Alter) und der Bakterienvielfalt zu testen, wurden lineare Regressionsmodelle verwendet. Die p-Werte wurden mittels der Benjamini & Hochberg-Methode für multiples Testen adjustiert (Benjamini und Hochberg, 1997). Zur Analyse der Unterschiede in der Zusammensetzung der Bakterienbesiedlung (Similaritätsanalyse) wurden Bray-Curtis Unähnlichkeitsmatrizen, basierend auf Hellinger-transformierten Abundanzen, berechnet (Legendre und Legendre, 2012, Bray und Curtis, 1957). Deren Signifikanztestung erfolgte mittels nichtparametrischen multivariaten Varianzanalysen (npMANOVA, R-package vegan; Anderson (2001)). Die Daten wurden durch das Zeichnen der ersten beiden Hauptkoordinaten der Hauptkomponentenanalyse (PCA) grafisch dargestellt. Mit Hilfe des Chao-Indexes wurde die Artenvielfalt zwischen zwei Gruppen geschätzt (Chao, 1984). Um zu analysieren, ob gepaarte Mutter-Kind-Proben ähnlicher sind als ungepaarte, wurden für alle Mutter-Kind-Paare und alle möglichen Kombinationen ungepaarter Mutter-Kind-Kombinationen Bray-Curtis-Distanzen geschätzt. Diese Distanzen wurden mittels Wilcoxon-Mann-Whitney-Tests verglichen. Um zu untersuchen, ob das Mikrobiom jüngerer Kinder stärker dem ihrer Mütter ähnelt als das älterer Kinder, wurde eine lineare Regression von den Bray-Curtis-Distanzen aller gepaarten Mutter-Kind-Stichproben, bezogen auf das Alter der Kinder, berechnet.

4. Ergebnisse

Im Folgenden wird zuerst anhand der Daten der prospektiven deutschen GDM-Studie der Einfluss von Stillen auf die langfristige Entwicklung eines T2D pp bei Frauen mit GDM und der Einfluss von T2D-assoziierten Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei deren Kindern untersucht. Anschließend wird mit Hilfe der Daten der neu etablierten POGO-Korte, die Ernährung der Mutter und der Einfluss des Darm-Mikrobioms bei Mutter und Kind im Zusammenhang mit dem postpartalen T2D-Risiko bei der Mutter und dem Übergewichtsrisiko bei ihren Kindern analysiert.

4.1 Stillen als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

Siehe auch Ziegler et al. (2012)

Einfluss von perinatalen Faktoren auf das Langzeit-Diabetes-Risiko bei Frauen mit GDM

Um Risikofaktoren und insbesondere den Einfluss des Stillens auf die langfristige Entwicklung eines Diabetes pp bei Frauen mit GDM zu untersuchen, wurden Daten von 304 Müttern der prospektiven deutschen GDM-Studie untersucht. Die Studienteilnehmerinnen sind unterteilt nach Therapieform in der Schwangerschaft, Inselautoantikörperstatus und Stillverhalten in Abb. 4.1 dargestellt.

In diesem Kollektiv entwickelten bislang 147 Frauen (48,4 %) einen Diabetes pp. Das kumulative Risiko, bis zu 15 Jahre nach Entbindung einen T2D zu entwickeln, lag bei 63,6 % [95 % KI: 55,8 ó 71,4]. Bei einem Teil der Frauen mit GDM (n=32) konnten im Blut T1D-assoziierte Inselautoantikörper nachgewiesen werden. Für diese Frauen war das Risiko, nach der Entbindung an Diabetes zu erkranken, sehr hoch. Bis auf eine Frau entwickelten alle Inselautoantikörper-positiven Frauen während des medianen Zeitraums von 4,5 Monaten nach der Entbindung einen manifesten Diabetes (Abb. 4.2).

Bei den Inselautoantikörper-negativen Frauen (n=272) wiesen die, die während der Schwangerschaft mit Insulin (n=92) behandelt werden mussten, das größte Risiko für einen T2D pp auf. Innerhalb von 15 Jahren entwickelten über 90 % einen T2D. Im Vergleich dazu erkrankten in diesem Zeitraum nur 32 % der diätetisch behandelten Frauen (n=180) nach der Geburt an T2D. Speziell bei diesen Frauen war für die spätere T2D-Entwicklung des BMI zu Beginn der Schwangerschaft entscheidend. So betrug das Risiko für T2D pp nahezu 70 %, wenn die Frauen einen BMI über 30 kg/m² hatten (n=84), im Vergleich zu 28,6 % bei Frauen

mit einem BMI unter 30 kg/m² (n=201, fehlende Daten: n=19). Zudem erkrankten adipöse im Vergleich zu nicht-adipösen Frauen mit Diät-behandeltem GDM (n=44 vs. n=125) deutlich früher an einem T2D (Median Diabetes-freie-Zeit: 10,2 Jahre vs. 18,2 Jahre).

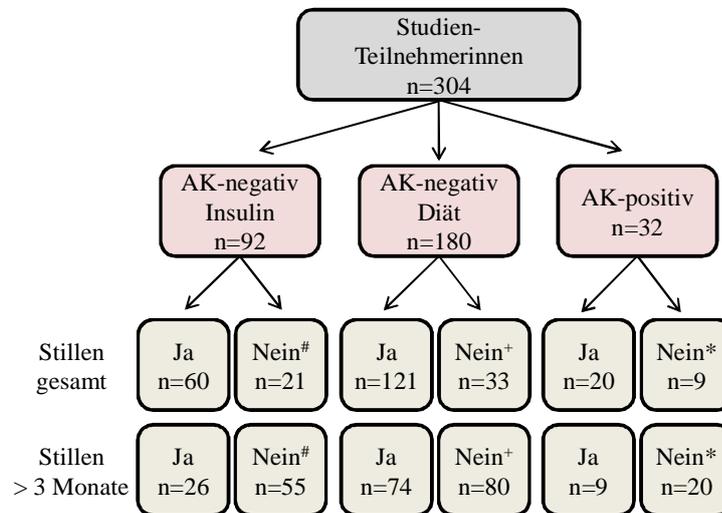


Abb. 4.1 Flussdiagramm der Mütter, die in die prospektive deutsche GDM-Studie eingeschlossen wurden. Unterteilt nach Therapie in der Schwangerschaft (Diät, Insulin), nach Inselautoantikörperstatus (AK) (AK-positiv, AK-negativ) und nach Stillen (Stillen gesamt, > 3 Monate gestillt). Fehlende Stilldaten: # n=11, + n=26, * n=3.

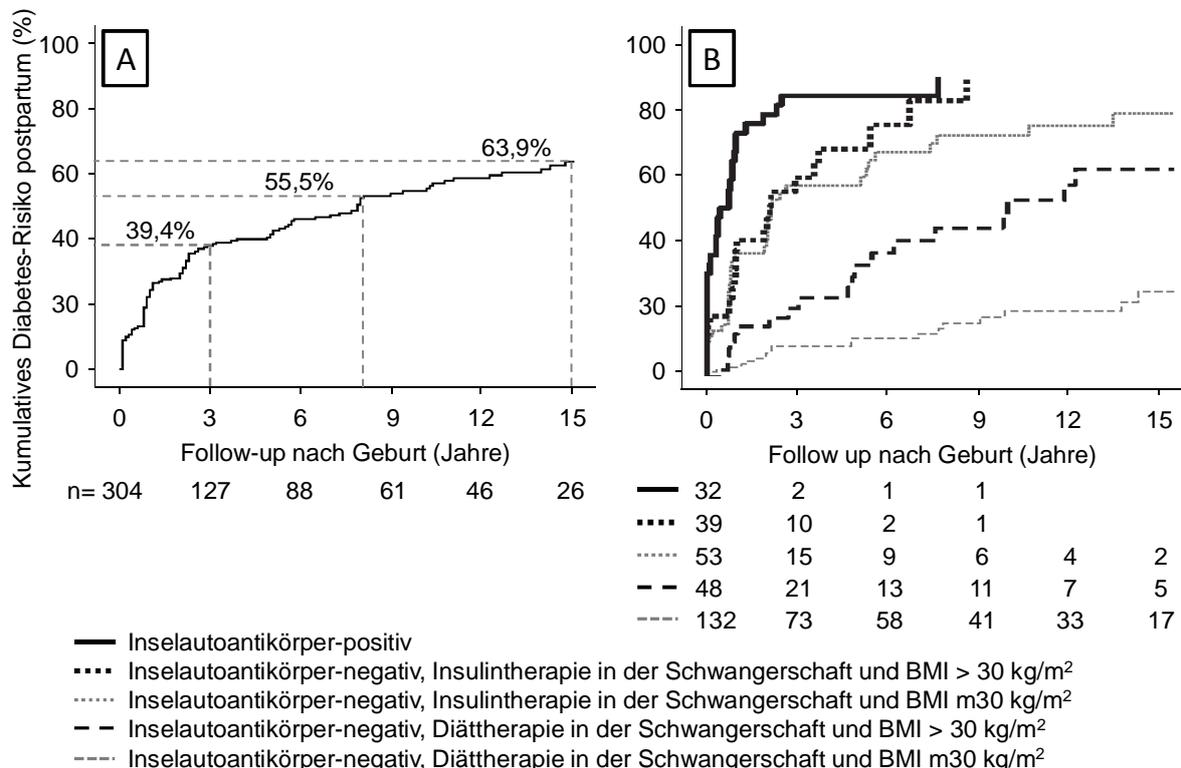


Abb. 4.2 Kumulatives Risiko für die Entwicklung eines Diabetes pp bei Frauen mit GDM allgemein (A) und in Abhängigkeit vom Inselautoantikörperstatus, der Therapieform während der Schwangerschaft und des BMI zu Beginn der Schwangerschaft (B). Die Zahlen unter den x-Achsen stellen die Anzahl an Müttern zu dem jeweiligen Follow-up Zeitpunkt dar.

Einfluss des Stillverhaltens auf das Langzeit-T2D-Risiko bei Frauen mit GDM

Von den insgesamt 304 Müttern der prospektiven deutschen GDM-Studie lagen für 264 Teilnehmerinnen auswertbare Daten zum Stillverhalten vor (Abb. 4.1). Insgesamt stillten 201 (76,1%) Mütter. Davon stillten 109 Frauen länger als drei Monate. Ein Vollstillen von bis zu 16 Wochen wurde bei 145 (54,9 %) Müttern dokumentiert. Die Dauer des Vollstillens korrelierte stark mit der Gesamtstilldauer ($r^2=0,71$; $p<0,0001$). Die mediane Gesamtstilldauer betrug neun Wochen (IQR: 1 ó 25) und die mediane Vollstilldauer vier Wochen (IQR: 0ó16). Mütter die in der Schwangerschaft mit Insulin therapiert wurden ($n=76$), stillten im Median nicht so lange, wie Frauen mit Diättherapie ($n=125$; mediane Stilldauer: 5 Wochen vs. 12 Wochen; $p=0,003$). Ebenso wiesen übergewichtige Frauen eine kürzere Stilldauer auf (mediane Stilldauer: 5 Wochen vs. 12 Wochen; $p=0,003$).

Frauen mit Inselautoantikörper zeigten gegenüber Frauen ohne Inselautoantikörper ($n=20$ vs. $n=181$) keine signifikanten Unterschiede in ihrem Stillverhalten (mediane gesamte Stilldauer: 6 Wochen vs. 9 Wochen, $p=0,47$). Frauen, die die Studie vorzeitig verlassen hatten, differenzierten sich mit einer durchschnittlichen Stilldauer von 11 Wochen nicht signifikant von Frauen die an der Studie weiter teilnahmen (9 Wochen; $p=0,97$).

Die Stilldauer der Frauen war abhängig vom Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie. Frauen die in der ersten Hälfte des Rekrutierungszeitraumes in die Studie eingeschlossen werden konnten, d.h. von 1989-1993, stillten insgesamt kürzer als Frauen die in der zweiten Hälfte der Rekrutierung von 1994-1999 eingeschlossen wurden (72 %, $n=101$ vs. 82 %, $n=100$; $p=0,04$).

Es war kein Einfluss des Stillens auf die Diabetes-Entwicklung bei Inselautoantikörper-positiven Frauen feststellbar ($n=20$). Im Gegensatz dazu war bei Inselautoantikörper-negativen Frauen, Stillen mit einer deutlichen Verzögerung der Entwicklung von Diabetes assoziiert im Vergleich zu Frauen, die nicht gestillt haben (Median Diabetes-freie-Zeit: 12,2 Jahre [95 % KI: 7,7 ó 16,8], $n=181$ vs. 2,2 [95 % KI 0,0 ó 6,1], $n=54$; $p=0,012$).

Die gesamte Stilldauer korrelierte invers mit dem postpartalen T2D-Risiko ($p=0,002$). Bei einer Stilldauer von mehr als 3 Monate lag bei Inselautoantikörper-negativen Müttern die Diabetes-freie-Zeit im Median bei 18,2 Jahren [95 % KI: 10,4 ó 25,9, $n=100$]. Diese Frauen wiesen das niedrigste postpartale T2D-Risiko (15-Jahres-Risiko: 42,3% [95 % KI: 28,9 ó 55,1]) im Vergleich zu Frauen, die nicht oder weniger als 3 Monate stillten auf (72,0% [95 % KI: 60,5 ó 84,7, $n=135$], $p=0,0002$; Abb. 4.3).

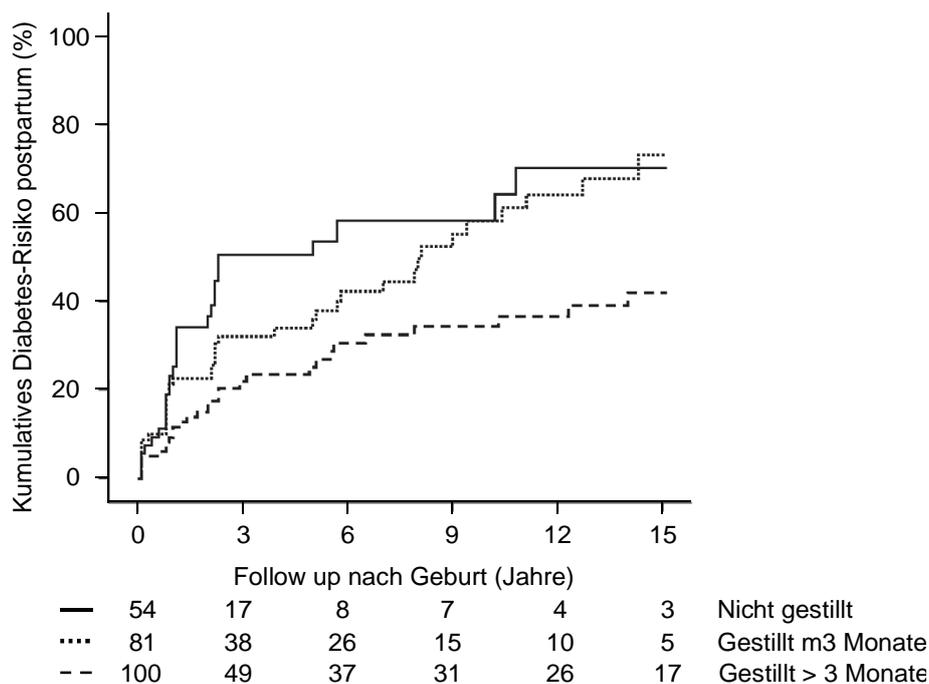


Abb. 4.3 Kumulatives Risiko für die Entwicklung eines Diabetes pp bei Frauen mit vorangegangenem GDM ohne Inselautoantikörper in Abhängigkeit von der Stilldauer. Die Zahlen unter der x-Achse stellen die Anzahl an Müttern zu dem jeweiligen Follow-up Zeitpunkt dar.

Die Analysen zeigten weiterhin, dass das postpartale T2D-Risiko invers mit der Vollstilldauer ($p=0,001$) assoziiert war. Mütter die mindestens für 3 Monate ausschließlich stillten, hatten ein niedrigeres 15-Jahres-Risiko im Vergleich zu denen, die weniger oder gar nicht voll stillten (34,8 % [95 % KI: 18,3 ó 41,3], $n=76$, vs. 71,7% [95 % KI: 60,3 ó 83,1], $n=94$; $p=0,001$; fehlende Daten: $n=31$).

Die multivariate Analyse verdeutlichte, dass die Faktoren Insulin-Therapie (Hazard Ratio 5,5 [95 % KI: 3,7 ó 8,2]; $p=10^{-16}$), BMI > 30 kg/m² (Hazard Ratio 1,7 [95 % KI: 1,1 ó 2,5], $p=0,009$) und Stillen > 3 Monate (Hazard Ratio 0,55 [95 % KI: 0,35 ó 0,85]; $p=0,009$) bei Inselautoantikörper-negativen GDM-Frauen signifikant und unabhängig mit dem postpartalen T2D-Risiko assoziiert waren. Dagegen hatten die Faktoren Alter bei Geburt, Anzahl vorangegangener Schwangerschaften, Jahr der Aufnahme in die Studie und Rauchen während der Schwangerschaft, keinen Einfluss auf das postpartale Diabetesrisiko (Tab. 4.1).

Die Stratifizierung der Frauen in die Gruppen šdiätetischö ($n=125$) vs. šInsulin behandelte Fälleö ($n=76$) und BMI Ö 30 kg/m² ($n=146$) vs. BMI > 30 kg/m² ($n=53$, fehlende Daten $n=2$) deutete darauf hin, dass der protektive Effekt des Stillens bei Frauen, die während der Schwangerschaft diätetisch und nicht mit Insulin behandelt worden sind, stärker war (Tab. 4.2). Auch Frauen mit einem BMI Ö 30 kg/m² profitierten mehr vom Stillen als adipöse Frauen.

Ergebnisse

Tab. 4.1 Multivariate Analyse zum postpartalen T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM (eingeschlossen wurden in diese Analyse nur Inselautoantikörper-negative Frauen)

Risikofaktoren	Hazard Ratio für T2D pp (95 % KI)*	p
Insulintherapie während Schwangerschaft	5,5 (3,7 ó 8,2)	10⁻¹⁶
BMI > 30 Anfang Schwangerschaft	1,5 (1,1 ó 2,1)	0,014
Stillen > 3 Monate	0,54 (0,34 ó 0,85)	0,008
Alter der Mutter	0,99 (0,95 ó 1,03)	0,58
Rauchen in Schwangerschaft	1,1 (0,5 ó 2,1)	0,85
Anzahl vorangegangener Schwangerschaften	1,03 (0,92 ó 1,17)	0,58
Jahr der Rekrutierung	0,96 (0,85 ó 1,08)	0,48

* Modell ist für alle in der Tabelle gezeigten Variablen adjustiert. Werte sind als Hazard Ratio mit 95 % Konfidenzintervall (95 % KI) dargestellt.

Tab. 4.2 Diabetes Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit des Stillverhaltens stratifiziert nach Therapieform in der Schwangerschaft und BMI (eingeschlossen wurden in diese Analyse nur Inselautoantikörper-negative Frauen)

Stratifizierungs-Variabel	Hazard Ratio für T2D pp (95 % KI)*	p
Therapie des GDMs		
Diät	0,46 (0,25 ó 0,85)	0,014
Insulin	0,81 (0,5 ó 1,3)	0,4
BMI		
Ö 30	0,56 (0,35 ó 0,9)	0,015
> 30	0,64 (0,33 ó 1,2)	0,18

*nicht adjustiertes Hazard Ratio für das postpartale Diabetes-Risiko bei Frauen die > 3 Monate vs. Frauen die Ö 3 Monate gestillt haben. Mittels proportionalem Cox Hazard Modell berechnet. Die Werte sind als Hazard Ratio mit 95 % Konfidenzintervall (95 % KI) dargestellt.

Einfluss des Stillverhaltens auf die postpartale Entwicklung des mütterlichen BMI

In dieser Arbeit wurde auch der Einfluss des Stillens auf den BMI, der einen unabhängigen Einflussfaktor für die postpartale Entwicklung des Diabetes darstellt, untersucht. Daten zum BMI nach der Schwangerschaft lagen bei 289 Müttern mit einem Median von 4,9 Jahren (IQR: 2,0 ó 7,4 Jahre) nach der Geburt vor. Die Ergebnisse zeigten, dass die Stilldauer mit dem postpartalen BMI assoziiert war. Frauen mit einem höheren BMI stillten nicht so lange wie Frauen mit einem niedrigeren BMI (p=0,006). Diese Beobachtung konnte sowohl für den BMI vor, als auch nach der Schwangerschaft gemacht werden (Abb. 4.4).

Dagegen wurde kein Einfluss des Stillens auf die BMI-Entwicklung nach der

Schwangerschaft (Delta BMI zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung und Anfang Schwangerschaft) und kein Zusammenhang mit der Stilldauer gefunden ($r^2=0,01$; $p=0,12$; Abb. 4.4). Das Delta der BMI-Entwicklung betrug bei Frauen die mehr als drei Monate stillten im Mittel $0,36 \text{ kg/m}^2$ (SD 2,0) im Vergleich zu $0,12 \text{ kg/m}^2$ (SD 2,6; $p=0,44$) bei Frauen die weniger als drei Monate stillten.

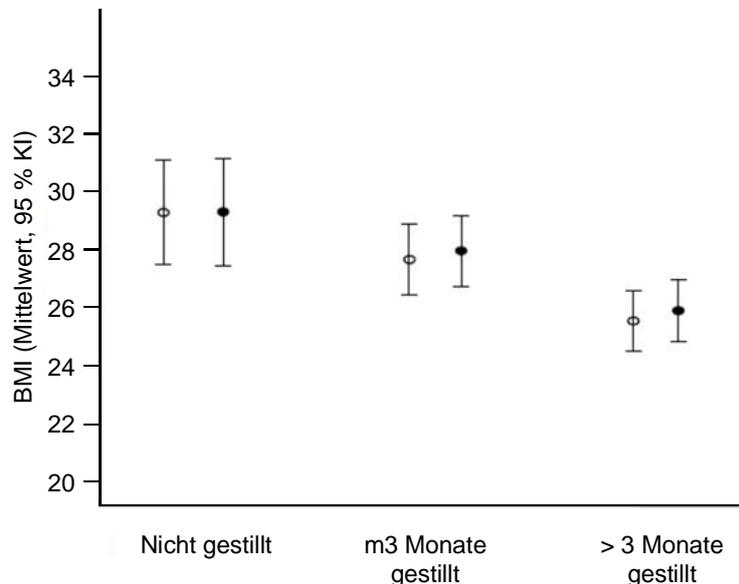


Abb. 4.4 BMI in Abhängigkeit von der Stilldauer am Anfang der Schwangerschaft (ungefüllte Kreise) und zum Zeitpunkt der letzten Nachuntersuchung (schwarz gefüllte Kreise), die Werte sind als Mittelwert mit 95% Konfidenzintervall (95 % KI) dargestellt.

4.2 Einfluss von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM

Siehe auch Roßbauer et al. (2011), Abstracts of the 47th Annual Meeting of the EASD, Lisbon

Einfluss der T2D-assoziierten Risikoallele auf den BMI von Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM

Um den Einfluss von T2D-assoziierten Risikoallelen auf den BMI-SDS von Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM zu untersuchen, wurden Daten von 185 Kindern der prospektiven deutschen GDM-Studie analysiert. Bei den untersuchten Kindern konnte über den gesamten Beobachtungszeitraum ein Zusammenhang zwischen dem T2D-Risikoallel am *HHEX-IDE* Locus und einem reduzierten BMI-SDS festgestellt werden ($-0,24$ per Risikoallel; [95 % KI: $-0,44$ ó $-0,04$], $p=0,019$; Tab. 4.3). Dagegen waren die T2D-assoziierten Risikoallele der *CDKALI* und *SLC30A8* Genregion nicht signifikant mit dem BMI-SDS

assoziiert (Tab. 4.3).

Tab. 4.3 Effekt von T2D-assoziierten SNPs auf den BMI-SDS bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM

Modell	Locus	BMI-SDS (95 % KI)	p
Univariates Modell	<i>HHEX-IDE rs10882102</i>	-0,24 (-0,44 ó -0,04)	0,019
	<i>CDKAL1 rs10946398</i>	0,01 (-0,23 ó 0,20)	0,892
	<i>SLC30A8 rs3802177</i>	-0,07 (-0,28 ó 0,14)	0,524
Multivariate Modelle*	<i>HHEX-IDE rs10882102</i>	-0,28 (-0,48 ó -0,07)	8,1x10⁻³
	<i>CDKAL1 rs10946398</i>	-0,02 (-0,22 ó 0,18)	0,841
	<i>SLC30A8 rs3802177</i>	-0,09 (-0,29 ó 0,10)	0,357
	LGA	0,55 (0,20 ó 0,90)	2,6x10⁻³
	Mütterlicher BMI × 30kg/m ²	0,61 (0,28 ó 0,94)	4,4x10⁻⁴
	Geschlecht (Männlich vs. Weiblich)	-0,07 (-0,36 ó 0,22)	0,622
	Alter	0,03 (0,00 ó 0,06)	0,038

Werte dargestellt als Regressionskoeffizient () und 95% Konfidenzintervall (KI), als Effekt pro Risikoallel, n=185 Kinder; Beobachtungszeitpunkte n=549;

*Variablen des multivariaten Modells: *HHEX-IDE rs10882102*, *CDKAL1 rs10946398*, *SLC30A8 rs3802177* (kodiert für die Anzahl an Risikoallelen), LGA (Large for gestational age): Geburtsgewichtspersentile > 90, BMI: Body-Mass-Index, Alter zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung, SDS: Standard Deviation Score.

Weiterhin waren im multivariaten Modell die Faktoren LGA (0,55 SDS [95 % KI: -0,20 ó -0,90]; p=2,6x10⁻⁰³), mütterlicher BMI × 30 kg/m² in der frühen Schwangerschaft (0,61 SDS [95 % KI: -0,28 ó -0,94]; p=4,4x10⁻⁰⁴) und zunehmendes Alter bei der Nachuntersuchung (0,03 SDS [95 % KI: 0,00 ó 0,06]; p=0,038) mit einem steigenden BMI-SDS der Kinder assoziiert (Tab. 4.3).

Es konnte kein Effekt der hier untersuchten Genotypen auf die Geburtsgewichtspersentilen, Größen-SDS wie auch Gewichts-SDS beobachtet werden (Tab. 4.4).

Tab. 4.4 Effekt von T2D-assoziierten SNPs auf Geburtsgewichtperzentilen, BMI-SDS und Gewichts-SDS bei Kindern von Müttern mit GDM

Univariates Modell	Locus	(95 %KI)	p
Geburtsgewichtperzentilen	<i>HHEX-IDE rs10882102</i>	-2,82 (-9,28 ó 3,65)	0,391
	<i>CDKAL1 rs10946398</i>	4,08 (-2,93 ó 11,08)	0,251
	<i>SLC30A8 rs3802177</i>	-3,03 (-9,78 ó 3,71)	0,376
Grö en-SDS	<i>HHEX-IDE rs10882102</i>	0,11 (-0,09 ó 0,30)	0,391
	<i>CDKAL1 rs10946398</i>	0,11 (-0,10 ó 0,32)	0,251
	<i>SLC30A8 rs3802177</i>	0,12 (-0,09 ó 0,32)	0,376
Gewichts-SDS	<i>HHEX-IDE rs10882102</i>	-0,12 (-0,30 ó 0,07)	0,299
	<i>CDKAL1 rs10946398</i>	0,07 (-0,13 ó 0,26)	0,315
	<i>SLC30A8 rs3802177</i>	0,04 (-0,15 ó 0,24)	0,273

Werte dargestellt als Regressionskoeffizient () und 95 % Konfidenzintervall (95 % KI) als Effekt pro Allel, n=185 Kinder; n=549 Beobachtungszeitpunkte, SDS: Standard Deviation Score.

Einfluss der T2D-assoziierten Risikoallele auf den BMI von Kindern von Müttern mit GDM in Abhängigkeit des Alters der Kinder

Um zu überprüfen, ob der BMI-SDS senkende Effekt des *HHEX-IDE*-Risikoallels bei Kindern von Müttern mit GDM über die Zeit konsistent bleibt, wurde die Analyse mittels Alters-Terzilen stratifiziert (1. Terzil: 1,0 ó 2,3 Jahre; 2. Terzil: 2,4 ó 8,1 Jahre; 3. Terzil: 8,1 ó 16,7 Jahre). Dabei hat sich gezeigt, dass der BMI senkende Effekt des *HHEX-IDE*-Risikoallels innerhalb des ersten Alters-Terzils am stärksten war (-0,38 SDS [95%KI: -0,64 ó -0,13]; $p=3,6 \times 10^{-3}$) und mit zunehmenden Alter abnahm (2. Terzil: -0,26 SDS [95 % KI: -0,53 ó -0,01]; $p=0,06$; 3.Terzil: -0,03 SDS [95 % KI: -0,36 ó 0,30]; $p=0,86$; Abb. 4.5A).

Einfluss der T2D-assoziierten Risikoallele auf den BMI von Kindern von Müttern mit GDM in Abhängigkeit des maternalen BMI

Um zu überprüfen, ob der BMI-SDS senkende Effekt des *HHEX-IDE*-Risikoallels bei Kindern von Müttern mit GDM durch den maternalen BMI beeinflusst wird, wurde die Analyse nach mütterlichem BMI in der frühen Schwangerschaft stratifiziert. Eine signifikante Senkung des BMI-SDS durch das *HHEX-IDE*-Risikoallel konnte nur bei Kindern von Müttern mit einem BMI < 30 kg/m² beobachtet werden (-0,40 SDS [95 % KI -0,64 bis -0,16]; $p=0,001$ vs. -0,02 SDS [95%KI -0,38 bis 0,34]; $p=0,9$; Abb. 4.5B).

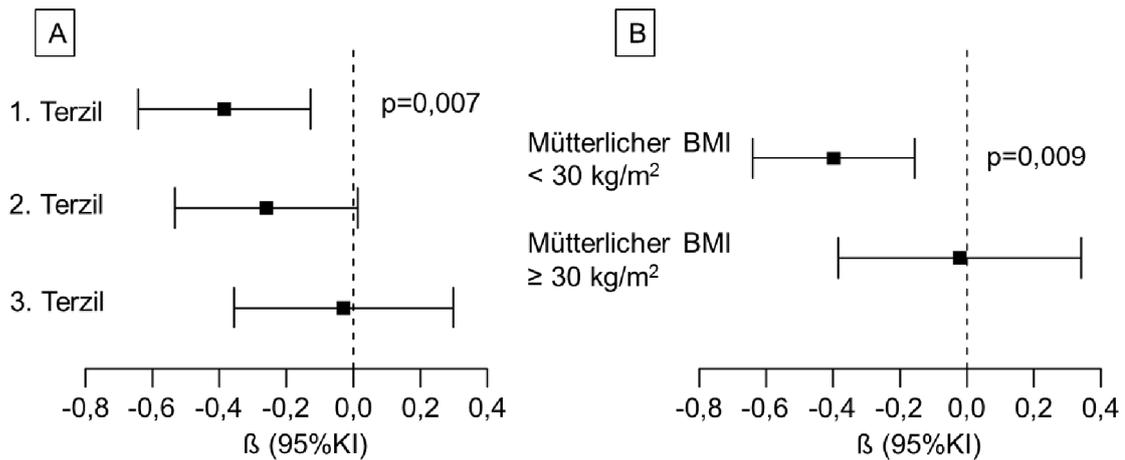


Abb. 4.5 Effekt von *HHEX-IDE*-Risikoallelen auf den BMI-SDS bei Kindern von Müttern mit GDM stratifiziert nach A) Alters-Terzilen (1. Terzil: 2,4 bis 8,1 Jahre; 2. Terzil: 2,4 bis 8,1 Jahre, 3. Terzil: 8,1 bis 16,7 Jahre) und B) Mütterlicher Body-Mass-Index (BMI) in der frühen Schwangerschaft. Werte dargestellt als Effekt pro Risikoallel mit Regressionskoeffizient und dem 95 % Konfidenzintervall (95% KI), SDS: Standard Deviation Score.

4.3 Etablierung der POGO-Kohorte

Siehe auch Hummel et al. (2013)

POGO-Mütter

Bis zum Sommer 2013 konnten 121 Mütter und 133 Index-Kinder, bei denen Daten zum GDM-Screening in der Schwangerschaft vorlagen, in die POGO-Studie eingeschlossen werden. Insgesamt wurde bei 105 Müttern in der Schwangerschaft ein GDM diagnostiziert. Im Rahmen dieser Arbeit wurden für die weiteren Fragestellungen nur Mütter mit GDM untersucht. Deren Charakteristika sind in Tab. 4.5 dargestellt.

Der BMI zu Beginn der Schwangerschaft lag bei den Frauen die später einen GDM entwickelten im Median bei 25,0 kg/m² (IQR: 22,9 ó 31,8 kg/m²). Davon waren 53 % normalgewichtig (< 25 kg/m²), 22 % übergewichtig (\times 25 und < 30 kg/m²) und 25 % adipös (BMI \times 30 kg/m²) (Tab. 4.5).

Die nach dem Satz von Bayes berechnete Soll-Verteilung des BMIs am Anfang einer GDM-Schwangerschaft zeigte, dass die erwartete und beobachtete Verteilung des BMIs der POGO-Frauen gut übereinstimmte (erwartete/beobachtete Verteilung: Untergewicht: 1,1 %/0,8 %; Normalgewicht: 49,0 %/52,0 %; Übergewicht: 29,2 %/22,0 %; Adipositas: 24,3 %/25,0 %) (NVS II, 2008) (Tab. 4.6). Im Gegensatz zu einer Normalkohorte, der NVS II besteht die POGO-Kohorte aus mehr adipösen (POGO: 25,0 %; NVS II: 14,3 %) und weniger normalgewichtigen Müttern (POGO: 52,0 %; NVSII: 61,2 %) (Tab. 4.6).

Insgesamt wurde bei 62 Frauen (60,8 %) der GDM in der Schwangerschaft diätetisch und bei 40 Frauen (39,2%) mit Insulin behandelt (3 fehlende Werte; Tab. 4.5).

Das durchschnittliche Alter lag bei der Index-Geburt aller teilnehmenden Frauen bei 34,4 Jahren (IQR: 30,6 ó 36,5 Jahre). Insgesamt waren 59,0 % der Mütter (n=62) jünger als 35 Jahre alt und 41,0 % der Mütter waren mindestens 35 Jahre alt (n=43).

Bei 105 Frauen mit GDM lagen Informationen zum Stillen vor. Davon hatten 9 Mütter (8,6 %) nicht gestillt und 96 Mütter (91,5 %) gestillt. Der Großteil der Mütter stillte länger als 3 Monate (82,9 %). Bei etwas weniger als der Hälfte (42,9 %) der Frauen trat bereits in der Familie (Verwandtschaft 1. Grades) ein Diabetes auf.

Im Median kamen die Studienteilnehmer 5,5 Jahre (1,8-11,4 Jahre) nach der Index-Schwangerschaft zur Nachuntersuchung. Zu diesem Zeitpunkt lag bei 46 Müttern (45,1 %) eine abnormale Glukosetoleranz vor. Davon hatten 19 Frauen (18,7 %) eine IGT, 18 IFG (17,6 %), 8 T2D (7,8 %) und eine Mutter (1,0 %) einen T1D.

Nach der Unterteilung der Mütter mit GDM nach dem in Kapitel 3.2.5 beschriebenen sozioökonomischen Schichtindex, sind 7,7 % der Frauen der Unterschicht, 25,7 % der Mittelschicht und 66,6 % der Oberschicht zuzuordnen.

Ergebnisse

Tab. 4.5 Charakteristika der Mütter mit GDM der POGO-Studienkohorte

Variablen	n (%)	Median	IQR	
			P25	P75
Alter bei Geburt	105	34,4	30,6	36,5
< 35 Jahre	62 (59,0)	31,4	29,4	33,6
× 35 Jahre	43 (41,0)	37,3	36,1	38,9
BMI (Anfang Schwangerschaft)	100	25,0	22,9	31,8
< 25 kg/m ²	53 (53,0)	22,8	21,1	23,9
× 25 und <30 kg/m ²	22 (22,0)	27,4	25,9	29,0
× 25 kg/m ²	25 (25,0)	33,6	32,0	38,7
Dauer der Schwangerschaft ¹	102	39,0	38,0	40,0
< 37 Wochen	9 (8,8)	36,0	34,0	36,0
× 37 Wochen	93 (91,2)	39,0	38,0	40,0
Therapie in der Schwangerschaft	102			
Diät	62 (60,8)			
Insulin	40 (38,9,2)			
Diagnose pp (75g OGTT)	102			
NGT	56 (54,9)			
IGT	19 (18,7)			
IFG	18 (17,6)			
T2D	8 (7,8)			
T1D	1 (1,0)			
Daten zu Diabetes in der Verwandtschaft	105			
Diabetes in der Verwandtschaft 1. Grades	45 (42,9)			
Stillinformation ¹	105			
Nicht gestillt	9 (8,6)			
Gestillt	96 (91,5)			
Ö3 Monate gestillt	9 (8,6)			
> 3 Monate gestillt	87 (82,9)			
Sozioökonomischer Schichtindex	105			
Unterschicht	8 (7,7)			
Mittelschicht	27 (25,7)			
Oberschicht	70 (66,6)			
Zeitpunkt der Nachuntersuchung ¹ (Jahre)		5,5	1,8	11,4

¹Daten der letzten Index-Schwangerschaft, Werte dargestellt als n mit % und Median mit Interquartilsabstand (IQR). BMI: Body-Mass-Index, OGTT: oraler 75g Glukosetoleranztest, NGT: Normale Glukosetoleranz, IGT: Gestörte Glukosetoleranz, IFG: abnorme Nüchtern glukose, T2D: Typ-2-Diabetes mellitus, T1D: Typ-1-Diabetes mellitus.

Tab. 4.6 Die erwartete und beobachtete Verteilung des BMI zu Beginn der GDM-Schwangerschaft. Gegenüberstellung der zu erwartenden BMI Verteilung bei Müttern mit GDM und Verteilung der POGO-Kohorte und der NVS II

	Untergewicht (% KI) Ö 18,5 kg/m ²	Normalgewicht (% KI) 18,5 < 25 kg/m ²	Übergewicht (% KI) 25 < 30 kg/m ²	Adipös (% KI) × 30 kg/m ²
Zu erwartende Verteilung ¹	1,1	45,4	29,2	24,3
POGO-Kohorte (n=100)	1,0	52,0	22,0	25,0
Normalkollektiv NVS II ² (n=1221)	3,5	61,2	21,0	14,3

¹ berechnet nach dem Satz von Bayes, anhand der Daten der PRAMS-Kohorte (n=22767) und den bayrischen Perinataldaten (n=678560) (Kim et al., 2010b, Beyerlein et al., 2010).

² Daten aus der Nationalen Verzehrsstudie II im Altersbereich: 30-39 Jahre (NVS II, 2008a).

POGO Kinder

Die Gruppe der in die POGO-Kohorte eingeschlossenen Index-Kinder besteht zu 58,6 % aus Jungen und 41,4 % aus Mädchen (Tab. 4.7). Zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung betrug das Alter der Index-Kinder (n=133) im Median 6,2 Jahre (IQR: 4,2 ó 8,4 Jahre) mit einer Altersspanne zwischen 1,8 und 12,7 Jahren. Die Körpergewichtsperzentilen der Index-Kinder lagen bei Geburt bei einem Median von 57,0 (IQR: 25,3 ó 82,8). Insgesamt kamen 16 Kinder (12,5 %) LGA und 15 (11,7 %) SGA zur Welt.

Die anthropometrischen Messungen während des Nachuntersuchungstermins, bzw. die aktuellsten Messungen aus den U-Heften zeigten, dass fünf der GDM-Index-Kinder übergewichtig (4,5 %) und weitere fünf (4,5 %) adipös waren. Im Gegensatz dazu war kein Index-Kind aus der Gruppe ohne GDM-Exposition übergewichtig oder adipös (Abb. 3.3).

Hinsichtlich des BMI-SDS (MW: -0,18; [95 % KI: -0,45 ó 0,10]; p=0,21) und der Summe des Hautfalten-SDS (MW: 0,07; [95 % KI: -0,14 ó 0,28; p=0,49]) wiesen die GDM-Index-Kinder keine signifikanten Unterschiede zu den GDM-Kindern des KiGGS auf (Anhang: Tab. 8.4). Bei der geschlechtsspezifischen Betrachtung konnten ebenso keine signifikanten Unterschiede im BMI-SDS und der Summe des Hautfalten-SDS zwischen Jungen und Mädchen gezeigt werden (BMI-SDS: MW:-0,15; [95 % KI: -0,72 ó -0,42]; p=0,60; Summe-Hautfalten-SDS MW: 0,08; [95 % KI:-0,35 ó -0,51]; p=0,70; Anhang: Tab. 8.5). Bei der Betrachtung von Vorschul- und Schulkindern lag ein signifikant höherer BMI-SDS und Trizeps-Hautfalten-SDS bei den Schulkindern (BMI: [95 % KI: -1,15 ó 0,00]; p=0,049; Trizeps: [95 % KI: -1,01 bis -0,02]; p=0,042) gegenüber den Vorschulkindern vor (Anhang: Tab. 8.6).

Bei sechs Kindern, die in der Schwangerschaft einem GDM ausgesetzt waren, wurde mittels

einem OGTT eine gestörte Glukosetoleranz diagnostiziert (IGT: 3 (4,9 %), IFG: 3 (4,9 %)). Nach Einteilung der Index-Kinder in den berechneten sozioökonomischen Schichtindex ihrer Mütter, konnten 13 Kinder der Unterschicht, 31 der Mittelschicht und der größte Anteil mit 86 Kindern der Oberschicht zugeordnet werden.

Tab. 4.7 Charakteristika aller Index-Kinder des POGO-Kollektives (mit und ohne GDM-Exposition)

Variablen	n (%)	Median	IQR	
			P25	P75
Alter bei Nachuntersuchung	133	6,2	4,2	8,4
Männlich	78 (58,6)			
Geburtsgewichtszentile	128	57,0	25,3	82,8
SGA	15 (11,7)	3,0	1,0	8,0
AGA	97 (75,8)	57,0	30,5	78,0
LGA	16 (12,5)	97,0	95,0	98,8
BMI-Perzentile	111	50,0	25,0	72,0
Jungen	63 (56,8)	56,0	33,0	81,0
Mädchen	48 (43,2)	33,0	18,5	64,5
Gewichtszentilen	101			
Normalgewicht < 90. Perzentile	(91,0)			
Übergewicht > 90. Perzentile	5 (4,5)			
Adipös > 97. Perzentile	5 (4,5)			
Diagnose pp (OGTT)	61			
NGT	55 (90,2)			
IGT	3 (4,9)			
IFG	3 (4,9)			
Diabetes	0			
Sozioökonomischer Schichtindex	130			
Unterschicht	13 (10,0)			
Mittelschicht	31 (23,8)			
Oberschicht	86 (66,2)			

Werte dargestellt als n mit % und Median mit Interquartilsabstand (IQR), SGA: Geburtsgewichtszentilen < 10, LGA: Geburtsgewichtszentile > 90, AGA: Geburtsgewichtszentile > 90, BMI: Body-Mass-Index, OGTT: oraler 75 g Glukosetoleranztest, NGT: Normale Glukosetoleranz, IGT: Gestörte Glukosetoleranz, IFG: abnorme Nüchternglukose.

4.4 Ernährung zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

Um den Einfluss der Ernährung pp auf das T2D-Risiko pp zu untersuchen wurden die mittels FFQ erhobenen Ernährungsdaten von 104 Frauen der POGO-Kohorte im Median 5,5 Jahre

nach einem GDM analysiert. Die Charakteristika dieser Kohorte wurden bereits in Tab. 4.5 dargestellt. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme an Nährstoffen, unterteilt in Energie, Makro- und Mikronährstoffe sind als Median, IQR sowie als prozentualer Anteil der aufgenommenen Gesamtenergie im Anhang in Tab. 8.7 beschrieben.

4.4.1 Vergleich der Nährstoffaufnahme von Müttern mit vorangegangenem GDM mit den D-A-CH-Referenzwerten

Zur Beurteilung einer adäquaten Nährstoffversorgung dieses GDM-Kollektives, wurde im ersten Abschnitt überprüft, ob sich Frauen nach mit vorangegangenem GDM entsprechend den von den Fachgesellschaften formulierten Empfehlungen ernähren (Anhang: Tab. 8.1).

Die Zufuhr an Energie, Makro- und Mikronährstoffen der POGO-Mütter ist als prozentual erreichter Anteil an den DRW in Abb. 4.6 dargestellt. Detaillierte Daten zur gesamten Nährstoffaufnahme im Vergleich zu den Referenzwerten befinden sich im Anhang (Tab. 8.8).

Im Median nahmen die Mütter 98,2 % der empfohlenen Energiezufuhr der DRW auf. Bis auf die Aufnahme von Cholesterin (90,5 % DRW) unterschieden sich die Zufuhrmengen aller Makronährstoffe bei den Müttern signifikant von den DRW.

Im Median überschritten die POGO-Mütter die Aufnahmemengen von Protein (130,6 %) und Fett (131,7 %) und unterschritten die DRW in der Kohlenhydrat- (79,2 %) und Ballaststoffzufuhr (70,9 %). Die Zufuhrmengen der meisten Vitamine, bis auf Vitamin C (97,4 % DRW), Vitamin B1 (102,0 % DRW) und Vitamin B9 (90,3 % DRW), unterschieden sich signifikant von den empfohlenen DRW.

Besonders auffällig waren die hohen Zufuhrmengen bei Vitamin K (413,7 %), die die DRW um das Vierfache im Median überschritten. Ebenso zeigten die Frauen sehr hohe Zufuhrmengen bei Vitamin B3 (Median: 288,2 % DRW) und Vitamin B12 (Median: 202,7 % DRW). Wegen der hohen Aufnahmemengen wurden Vitamin K und Vitamin B3 nicht grafisch dargestellt. Im Gegensatz dazu war die mediane Aufnahme von Vitamin D bei den Müttern mit 9,5 % der DRW sehr gering.

Die untersuchten POGO-Mütter unterschieden sich in der Aufnahme von allen analysierten Mineralstoffen signifikant von den DRW. Die empfohlenen Zufuhrmengen von Calcium (78,7 %), Eisen (84,8 %) und Jod (54,7 %) wurden im Median von dieser Kohorte nicht erreicht. Dagegen nahmen die Mütter im Median mehr an Phosphor (182,4 %), Magnesium (114,3 %), Kalium (176,6 %), Zink (166,1 %) und mehr als dreimal so viel an Natrium (302,3 %) und Chlorid (353,0 %) im Vergleich zu den DRW auf. Aufgrund dieser hohen Zufuhrmengen wurden Natrium und Chlorid nicht grafisch dargestellt.

Ergebnisse

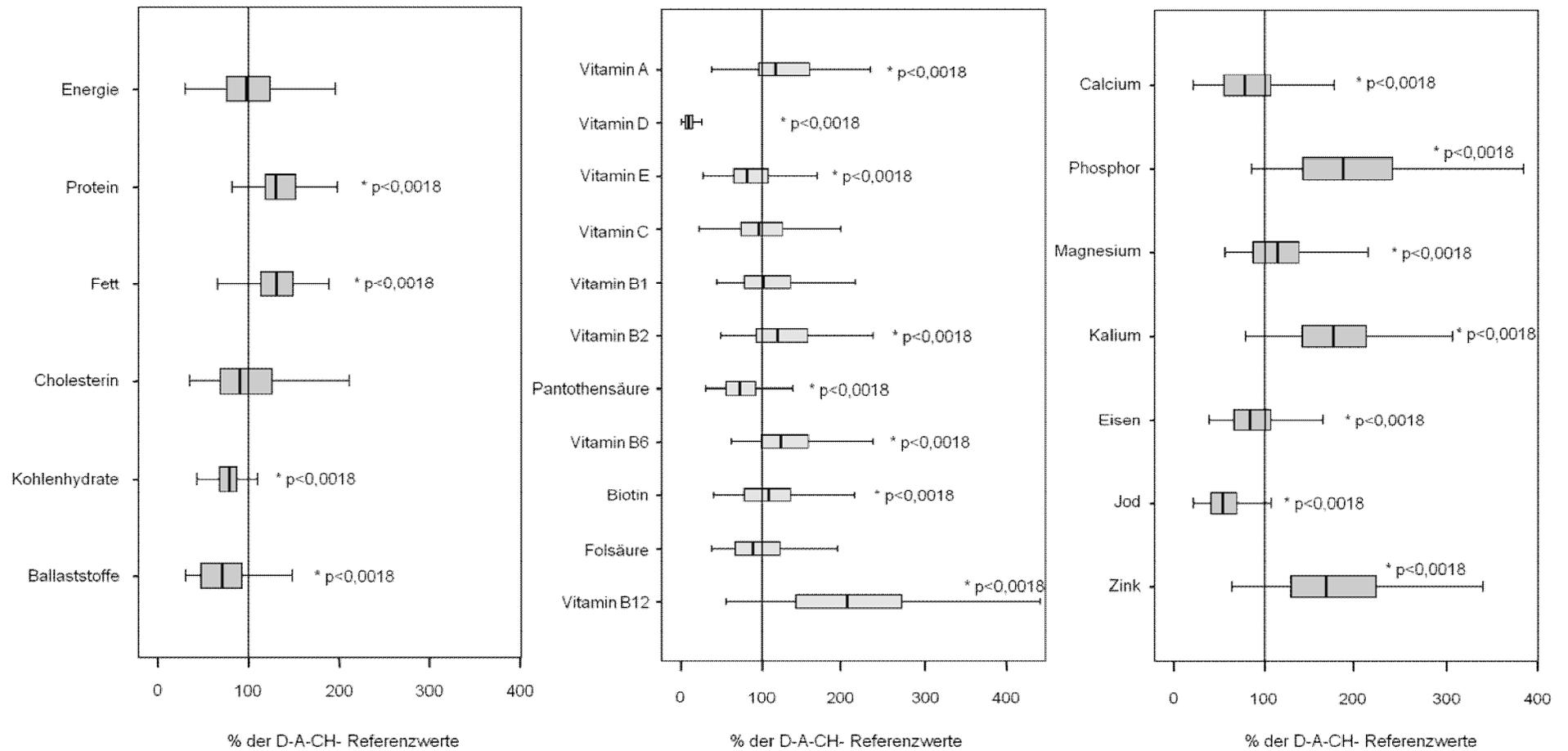


Abb. 4.6 Prozentualer Anteil an den D-A-CH-Referenzwerten für die Energie-, Makronährstoff- und Mikronährstoffzufuhr der POGO-Mütter mit GDM. Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum (ohne Ausreißer), * p-Werte für D-A-CH-Vergleich Bonferroni korrigiert $p < 0,0018$, $n = 104$.

4.4.2 Vergleich der Nährstoffaufnahme zwischen Müttern mit vorangegangenem GDM und Frauen der Nationalen Verzehrsstudie II

Um zu überprüfen, ob sich die Nährstoffaufnahme der Mütter (n=104) mit vorangegangenem GDM zum Zeitpunkt der Nachuntersuchen (Median: 5,5 Jahre) von einem Normalkollektiv unterscheidet, wurden die Daten der GDM Frauen (n=104) der POGO-Studie mit den Zufuhrmengen der NVS II-Teilnehmerinnen im Alter von 25 bis 50 Jahren verglichen (NVS II, 2008b) (Anhang: Tab. 8.9). Die Gegenüberstellung der Zufuhrmengen dieser beiden Kollektive ist im prozentualen Vergleich in Tab. 4.8 dargestellt.

Die POGO-Mütter unterschieden sich im Median in ihrer Energieaufnahme nicht signifikant von den Zufuhrmengen des Normalkollektives (101,5 %). Die Aufnahme von Protein und Fett lag signifikant über den Zufuhrengegen der Frauen der NVS II Studie (117,9 % und 113,1 %). Dagegen befand sich die Kohlenhydratzufuhr der POGO-Mütter im Median signifikant unterhalb der Frauen der NVS II Studie (92,0 %). In der Aufnahme von Cholesterin (Median: 95,3 %) und Ballaststoffen (Median: 87,3 %) war kein signifikanter Unterschied zu dem Normalkollektiv zu sehen.

Die Vitaminzufuhr der POGO-Mütter unterschied sich nur bei Vitamin B2 (Median: 94,3 %) und Folsäure (Median: 90,9 %) nicht signifikant von der NVS II. Bis auf Vitamin B12 (138,2 %) und Niacin (124,9 %) waren bei allen Vitaminen die Zufuhrmengen im Median niedriger als bei den NVS II-Teilnehmerinnen.

In der Mineralstoffzufuhr unterschieden sich die beiden Kohorten bis auf die Zufuhr von Eisen (Median: 100,2 %) bei allen analysierten Mineralstoffen signifikant. Dabei lag die Aufnahme von Calcium (74,0 %), Magnesium (89,5 %), Natrium (65,0 %) sowie Jod (55,8 %) im Median niedriger und Kalium (107,1 %) und Zink (118,0 %) im Median höher als die der NVS II Frauen.

Ergebnisse

Tab. 4.8 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme der Mütter mit vorangegangenem GDM der POGO-Studie im prozentualen Vergleich zu den Zufuhrmengen der Frauen der Nationalen Verzehrsstudie II

Nährstoffgruppe	Nährstoffe		POGO-Mütter (n=104)			% NVS II (n=3666)			p*
			Median	IQR		Median	IQR		
				P25	P75		P25	P75	
Energie	Energie	[kcal]	2062,0	1598,5	2612,4	101,5	78,7	128,6	0,04231
Makro-nährstoffe	Protein	[g]	81,6	62,8	99,8	117,9	90,7	144,2	<0,0022
	Fett	[g]	86,6	63,3	109,3	113,1	97,9	128,4	<0,0022
		[mg]	271,6	205,0	372,8	95,3	71,9	130,8	0,5693
	Kohlenhydrate	[g]	221,9	169,9	300,4	92,0	70,5	124,6	<0,0022
[g]		21,3	14,5	27,9	87,3	59,3	114,5	0,0291	
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A [mg]	,9	,8	1,3	51,6	42,8	72,1	<0,0022
		Vitamin D [g]	1,9	1,1	2,9	71,3	40,2	110,3	<0,0022
		Vitamin E [mg]	10,0	7,9	13,4	72,7	57,7	97,5	<0,0022
		Vitamin C [mg]	97,4	74,8	125,3	64,5	49,6	83,0	<0,0022
		Vitamin B1 [mg]	1,0	,8	1,4	72,9	56,3	96,4	<0,0022
		Vitamin B2 [mg]	1,4	1,1	1,9	94,3	74,7	124,7	0,4024
		Vitamin B3 [mg]	37,5	29,3	45,7	124,9	97,5	152,2	<0,0022
		Vitamin B6 [mg]	1,5	1,2	1,9	71,7	57,7	91,5	<0,0022
		Vitamin B9 [g]	270,9	202,4	366,0	90,9	67,9	122,8	0,2340
	Vitamin B12 [g]	6,1	4,2	8,1	138,2	94,9	184,5	<0,0022	
	Mineralstoffe	Calcium [mg]	787,5	558,5	1077,1	74,0	52,5	101,2	<0,0022
		Magnesium [mg]	342,8	261,7	414,7	89,5	68,3	108,3	<0,0022
		Natrium [mg]	1662,5	1240,8	2308,6	65,0	48,5	90,3	<0,0022
		Kalium [mg]	3531,1	2826,8	4239,2	107,1	85,8	128,6	<0,0022
		Eisen [mg]	12,7	9,9	16,0	100,2	78,0	126,1	0,6651
		Jodid [g]	109,3	83,7	142,0	55,8	42,7	72,4	<0,0022
Zink [mg]		11,6	9,1	15,6	118,0	92,4	157,9	<0,0022	

* p-Werte für NVS II Vergleich, Bonferroni korrigiert $p < 0,0022$, Werte dargestellt als Median und Interquartilsabstand (IQR).

4.4.3 Ernährungsverhalten von Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit des postpartalen T2D-Risikos und des sozioökonomischen Status

Ziel dieser Analyse war zu überprüfen, ob sich das Ernährungsverhalten bei Müttern mit vorangegangenem GDM und erhöhtem postpartalen T2D-Risiko von Müttern mit GDM und geringerem postpartalen T2D-Risiko unterscheidet. Zugleich wurde analysiert, welchen Einfluss der sozioökonomische Status der Mutter auf das Ernährungsverhalten in dieser Kohorte hat.

Für diese Untersuchung wurden alle Nährstoffe analysiert, deren Zufuhrmengen bei dem Vergleich der POGO-Mütter mit den Frauen eines Normalkollektives (NVS II) signifikant verschieden waren. Entsprechend des unter 3.2.3 beschriebenen T2D-Risikoscores wurden die 104 POGO-Mütter für diese Analyse in die beiden Gruppen *š*niedriges postpartales T2D-Risiko*š* (Niedrigrisikogruppe) und *š*erhöhtes postpartales T2D-Risiko*š* (Hochrisikogruppe) eingeteilt. In diesem Kollektiv ließen sich 39 Mütter (37,5 %) in die Hochrisikogruppe und 65 Mütter (62,5 %) in die Niedrigrisikogruppe gruppieren.

Zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung wurde bei 23 (59,0 %) Müttern der Hochrisikogruppe abnormale Werte während des OGTTs gemessen. Vier dieser Mütter (10,3 %) bekamen einen T2D diagnostiziert (Tab. 4.9). Im Vergleich dazu hatten in der Niedrigrisikogruppe zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung 18 Frauen (27,7 %) pathologische Werte während des OGTTs entwickelt, wovon bei zwei Frauen (3,1 %) ein T2D diagnostiziert wurde.

Tab. 4.9 Glukosetoleranz bei Müttern mit GDM zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung unterteilt in die beiden T2D-Risikogruppen

Glukosetoleranz pp	Niedrigrisikogruppe n (%)	Hochrisikogruppe n (%)
n (gesamt)	65 (62,5)	39 (37,5)
Normale Glukosetoleranz	47 (72,3)	16 (41,0)
Abnorme Nüchternglukose	7 (10,8)	11 (28,2)
Gestörte Glukosetoleranz	9 (13,8)	8 (20,5)
Typ-2-Diabetes mellitus	2 (3,1)	4 (10,3)

Nährstoffaufnahme von Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit des postpartalen T2D-Risikos

Unterschiede in der Makronährstoffaufnahme zwischen den beiden T2D-Risikogruppen sind in Tab. 4.10 dargestellt. Die tägliche Proteinaufnahme zeigte nach Korrektur für die Gesamtenergieaufnahme einen Trend zu einer höheren Aufnahme (6,2 g [95 % KI: -0,5 ó 13,0 g]; p=0,07) bei Frauen der Hochrisikogruppe (n=39) im Gegensatz zu den Frauen der Niedrigrisikogruppe (n=65). Unter Betrachtung des prozentualen Anteils der Proteinaufnahme an der Gesamtenergieaufnahme war der Effekt zwischen den beiden T2D-Risikogruppen signifikant (p=0,027) (Tab. 8.10). Die Analyse der Fettzufuhr zeigte, dass Frauen der Hochrisikogruppe signifikant mehr Fett zu sich nahmen als Frauen der Niedrigrisikogruppe (6,9 g [95 % KI: 0,4 ó 13,6 g]; p=0,039). Gleichzeitig wiesen Frauen der Hochrisikogruppe eine um 19,1 g signifikant gesenkte Kohlenhydrataufnahme im Vergleich zu der Niedrigrisikogruppe auf ([95 % KI: -35,3 ó 2,9 g]; p=0,021).

Zwischen den beiden T2D-Risikogruppen zeigten sich in der Mikronährstoffzufuhr (ohne Bezug auf die Gesamtenergieaufnahme) keine signifikanten Unterschiede (Anhang: Tab. 8.10).

Tab. 4.10 Durchschnittliche tägliche Makronährstoffaufnahme bei Müttern mit vorangegangenem GDM unterteilt in die beiden T2D-Risikogruppen

Variablen	Niedrigrisikogruppe			Hochrisikogruppe			p*	(95 % KI)
	Median	IQR		Median	IQR			
		P25	P75		P25	P75		
Protein [g]	78,6	62,3	100,5	84,7	63,7	99,0	0,070	6,2 (-0,5-13,0)
[EN %]	[15,7]	[14,1]	[18,0]	[17,1]	[15,1]	[19,9]		
Fett [g]	85,8	64,7	108,1	88,3	62,7	114,0	0,039	6,9 (0,4-13,6)
[EN %]	[37,6]	[33,2]	[42,4]	[40,1]	[36,6]	[46,1]		
Khe [g]	224,2	185,3	327,1	202,8	133,2	279,7	0,021	-19,1 (-35,36-2,9)
[EN %]	[47,1]	[41,0]	[52,1]	[44,2]	[35,6]	[47,5]		

*Korrigiert für die totale Energieaufnahme (in kcal), Werte dargestellt als Median und Interquartilsabstand (IQR); Regressionskoeffizient () und 95 % Konfidenzintervall (95 % KI), EN %: prozentualer Anteil an der Gesamtenergieaufnahme; Khe: Kohlenhydrate.

Nährstoffaufnahme von Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit des sozioökonomischen Schichtindex

Um zu überprüfen, ob der sozioökonomische Status der Mütter das Ernährungsverhalten pp der POGO-Mütter beeinflusst, wurden die Mütter gemäß des berechneten Schichtindex in Gruppen eingeteilt (Kapitel 3.2.5). Daraus resultierten 3 in ihrer Größe nicht homogene Gruppen (Unterschicht: n=8; Mittelschicht: n=26; Oberschicht: n=66, fehlende Werte: n=4).

Ergebnisse

Aufgrund der geringen Fallzahl in den beiden Gruppen Unterschicht und Oberschicht wurden diese beiden Gruppen in eine Gruppe zusammengefasst (Tab. 4.11).

Im gesamten Kollektiv gehörten 39 Mütter (37,5 %) der Hochrisikogruppe an, wobei 16 Mütter (41,0 %) der Unter-/Mittelschicht und 23 Mütter (59,0) der Oberschicht zugeordnet werden konnten. In der Niedrigrisikogruppe (n=65) befanden sich 18 Frauen (27,7 %) in der Unter-/Mittelschicht und 47 Frauen (72,3 %) in der Oberschicht. Die Gruppierung in die Hoch- und Niedrigrisikogruppe war nicht signifikant mit dem Schichtindex assoziiert.

Tab. 4.11 Einteilung der POGO-Mütter mit GDM nach postpartalem T2D-Risiko und sozioökonomischem Schichtindex

Variablen	Niedrigrisikogruppe n (%)	Hochrisikogruppe n (%)	p
	65 (62,5)	39 (37,5)	0,161
Unter-/Mittelschicht	18 (27,7)	16 (41,0)	
Oberschicht	47 (72,3)	23 (59,0)	

n=100, fehlende Werte n=4.

Unterschiede in der Makronährstoffaufnahme, korrigiert für die Gesamtenergieaufnahme, sind im Zusammenhang mit den sozioökonomischen Schichten in Tab. 4.12 dargestellt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen und deren Makronährstoffaufnahme gezeigt werden.

Bei der Betrachtung der Aufnahme der Mikronährstoffe (ohne Bezug auf die Gesamtenergieaufnahme) zeigten sich zwischen den beiden sozioökonomischen Gruppen ebenfalls keine signifikanten Unterschiede (Anhang: Tab. 8.11).

Tab. 4.12 Durchschnittliche tägliche Makronährstoffaufnahme bei Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit vom sozioökonomischen Schichtindex

Variablen	Unter-/Mittelschicht			Oberschicht			p*	(95 % KI)
	Median	IQR		Median	IQR			
		P25	P75		P25	P75		
Protein [g]	85,9	62,3	97,4	80,3	63,7	102,2	0,296	-3,7(-10,6 ó 3,2)
[EN %]	[17,6]	[15,7]	[20,0]	[15,5]	[14,3]	[18,2]		
Fett [g]	82,2	59,9	100,7	89,4	66,0	109,8	0,798	-0,9 (-7,9 ó 6,1)
[EN %]	[38,4]	[34,1]	[45,8]	[39,5]	[34,0]	[44,8]		
Khe [g]	211,0	155,2	272,1	224,2	172,6	316,9	0,765	2,6 (-14,7 ó 19,9)
[EN %]	[45,]	[38,5]	[49,5]	[46,1]	[40,0]	[50,5]		

*Korrigiert für die totale Energieaufnahme (in kcal), Werte dargestellt als Median und IQR: Interquartilsabstand; Regressionskoeffizient () und 95 % Konfidenzintervall (95 % KI), EN %: prozentualer Anteil an der Gesamtenergieaufnahme; Khe: Kohlenhydrate, n=100, fehlende Werte n=4.

4.5 Darm-Mikrobiom als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Müttern mit vorangegangenem GDM und auf die Entstehung von Übergewicht bei ihren Kindern

Siehe auch Roßbauer et al. (2014), Abstract der 49. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft, accepted

Um zu untersuchen, ob Mütter mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung ein verändertes Darm-Mikrobiom aufweisen, wurde das Darm-Mikrobiom aus Stuhlproben von 30 Müttern der POGO-Studie untersucht. Gleichzeitig wurde das Darm-Mikrobiom ihrer Kinder analysiert. Dabei wurde der Fragestellung nachgegangen, ob ein erhöhtes postpartales T2D-Risiko der Mütter sowie die mütterliche Adipositas einen Einfluss auf das Darm-Mikrobiom der Kinder hat und somit ursächlich für das gesteigerte Adipositasrisiko der Kinder ist. Zudem wurde untersucht, ob sich Mütter in ihrem Darm-Mikrobiom ihrem Kind ähnlicher sind als anderen Kindern.

4.5.1 Charakteristika der Kohorte und der Proben

Die Charakteristika der Mutter-Kind-Paare sind in Tab. 4.13 dargestellt. Von den 30 Mutter-Kind-Paaren waren 26 einem vorangegangenem GDM ausgesetzt. Der BMI der Mütter vor der Schwangerschaft unterscheidet sich kaum vom BMI zum Zeitpunkt der Proben (Median: 5,5 Jahre pp). Dieser lag im Mittel bei den Frauen bei $28,6 \text{ kg/m}^2$ (SD 7,6) und die BMI-Perzentile der Kinder bei 51,7 (SD 24,8). Die Mütter dieser Subkohorte waren bei der Probennahme im Mittel 39,7 Jahre alt (SD 5,5) und deren Kinder 6,2 Jahre alt (SD 1,8). Insgesamt waren acht Mütter und ein Kind übergewichtig. Von den 26 Frauen mit GDM wurden 15 diätetisch und 11 mit Insulin in der Schwangerschaft behandelt. Zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung erfolgte bei 19 Frauen (63,3 %) anhand eines 75g OGTTs die Diagnose einer normalen und bei 11 Frauen einer gestörten Glukosetoleranz. Ein erhöhtes postpartales T2D-Risiko wurde anhand des bereits beschriebenen T2D-Risikoscores für 11 Frauen berechnet (Kapitel 3.2.3). Insgesamt kamen 11 der 30 Kinder per Sectio auf die Welt.

Ergebnisse

Tab. 4.13 Charakteristika der 30 Mutter-Kind-Paare die in die Darm-Mikrobiom Analyse eingegangen sind

Variablen		
Mütter	n	30
Alter (Jahre)	(MW ± SD)	39,7 ± 5,5
GDM	n (%)	26 (87,0)
BMI	(MW ± SD)	28,6 ± 7,6
< 30 kg/m ²	n (%)	22 (73,3)
× 30 kg/m ²	n (%)	8 (26,7)
BMI Anfang der Schwangerschaft	(MW ± SD)	28,3 ± 9,4
< 30 kg/m ²	n (%)	22 (73,3)
× 30 kg/m ²	n (%)	8 (26,7)
Therapie in der Schwangerschaft	n	26
Diät	n (%)	15 (57,7)
Insulin	n (%)	11 (42,3)
Diagnose pp (75g OGTT)	n	30
NGT	n (%)	19 (63,3)
AGT	n (%)	11 (36,7)
IFG	n (%)	5 (16,7)
IGT	n (%)	3 (10,0)
Diabetes	n (%)	3 (10,0)
T2D-Hochrisikogruppe*	n (%)	11 (44)
Dauer Stuhltransport (Stunden)	(MW ± SD)	39,3 ± 12,5
Kinder	n	30
Geschlecht (männlich)	n (%)	21 (70,0)
Alter	(MW ± SD)	6,2 ± 1,8
BMI Perzentile	(MW ± SD)	51,7 (24,8)
BMI > 97. Perzentile	n (%)	1 (3,3)
Sectio	n (%)	11 (36,7)
gestillt	n (%)	29 (96,7)
Dauer Stuhltransport (Stunden)	(MW ± SD)	39,0 ± 8,8

* Nach dem T2D- (Typ-2-Diabetes mellitus) Risikoscore berechnet. Werte dargestellt als n mit % oder Mittelwert und Standardabweichung (MW ± SD), BMI: Body-Mass-Index, GDM: Gestationsdiabetes, NGT: normale Glukosetoleranz, IFG: abnorme Nüchtern glukose, IGT: gestörte Glukosetoleranz, AGT: abnormale Glukosetoleranz.

4.5.2 Etablierung der Analyse des Darm-Mikrobioms in humanen Faeces-Proben

Alter, Geschlecht und Geburtsmodus und deren Einfluss auf das Darm-Mikrobiom

Bei der Betrachtung der Kinder abhängig von ihrem Alter (Gruppe 1: < 5 Jahre n=9 und Gruppe 2: ≥ 5 Jahre n=21) konnten hinsichtlich der Diversität des Darm-Mikrobioms (Chao Index: $p=0,96$) und der absoluten Häufigkeit auf Phylum- und Genus-Ebene keine Unterschiede zwischen den beiden Altersgruppen gefunden werden (Anhang: Tab. 8.12). Von den Kindern waren 21 männlich und 9 weiblich. Auch hier lagen keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Diversität sowie der absoluten Häufigkeit auf Phylum- und Genus-Ebene des Darm-Mikrobioms vor (Anhang: Tab. 8.13). Die 11 Kinder, die per Sectio auf die Welt kamen, zeigten im Vergleich zu Kindern, die ohne Kaiserschnitt auf die Welt kamen, keine Unterschiede in der bakteriellen Diversität (berechnet nach dem Chao-Index: $p=0,48$). Zwischen den Proben waren auch keine Unterschiede in der absoluten Häufigkeit auf Phylum- und Gattungs-Ebene zu finden (Anhang: Tab. 8.14). Bis auf ein Kind wurden alle Kinder dieser Kohorte gestillt.

Transportzeit der Faeces-Proben und deren Einfluss auf das Darm-Mikrobioms

Die Transportzeit der Faeces-Proben lag im Mittel bei 39,1 Stunden (SD 10,7) (Anhang Abb. 8.1). Nach Adjustierung für multiples testen zeigte sich kein signifikanter Einfluss auf die relative Häufigkeit der Bakterienspezies (Abb. 4.7). Die für die Sequenzierung durchgeführte DNA-Ausbeute der Faeces-Proben lag im Median bei 22,5 ng/ l DNA (IQR: 15,3 ó 45,8 ng/ l).

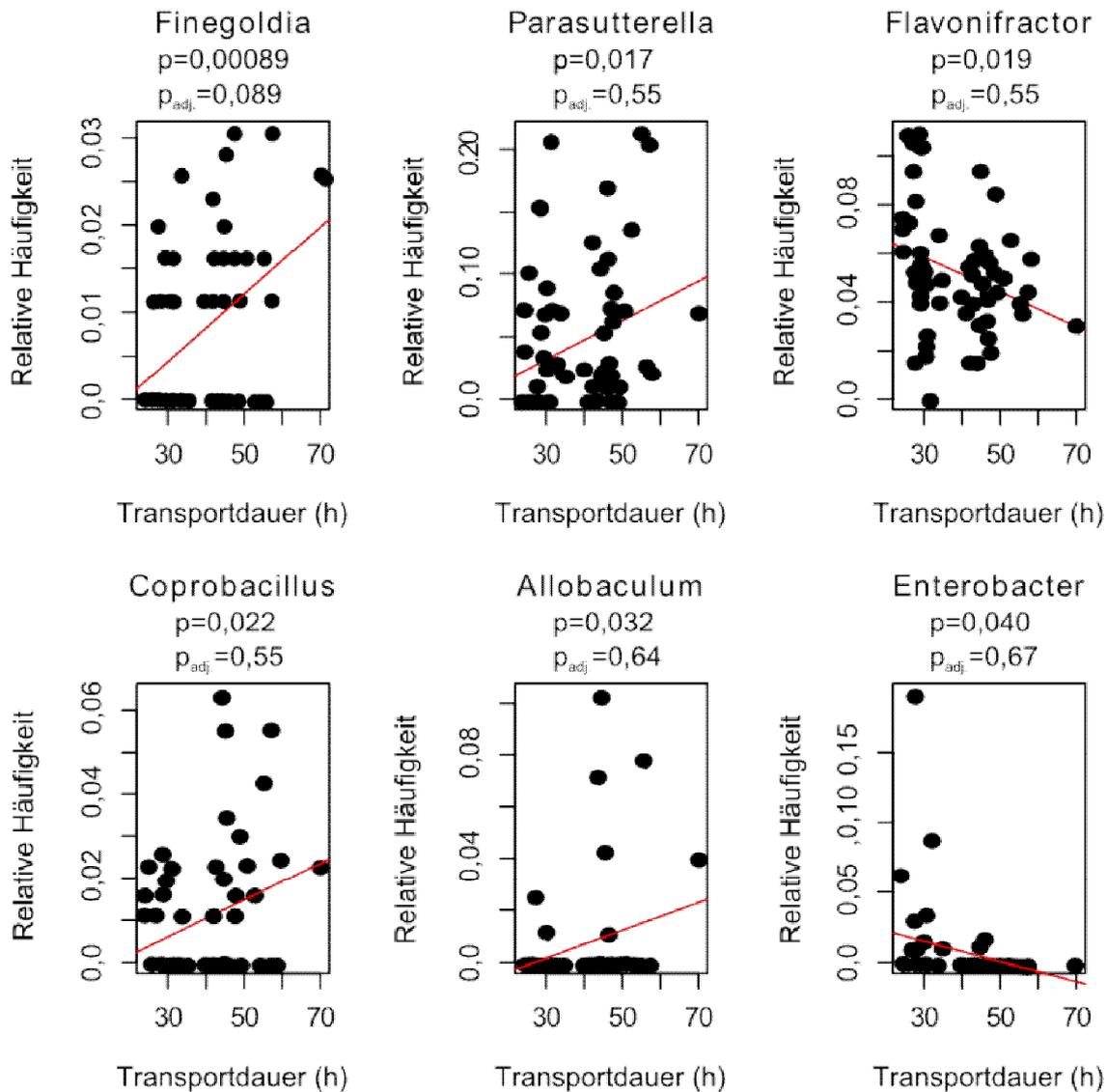


Abb. 4.7 Darstellung der relativen Häufigkeit von sechs Bakterienspezies (Genus-Level) in Anhängigkeit von der Stuhltransportdauer vom niedrigsten p-Wert aufsteigend sortiert. Daten nach Hellinger transformiert, p-Werte nicht-adjustiert und p_{adj} für multiples Testen adjustiert abgebildet.

Platteneffekte und deren Einfluss auf das Darm-Mikrobiom

Die Messung der 60 Proben erfolgte auf zwei PTP-Platten und damit auch in zwei Sequenzierläufen. Insgesamt wurden bei der 454-Sequenzierung auf der ersten Platte 1.029.396 Reads und bei der zweiten Platte 1.101.512 Reads gemessen. Nach der Aussortierung von Primer- und Adaptersequenzen wurden auf der ersten Platte durchschnittlich 20.180 Reads und auf der zweiten Platte 23.076 Reads pro Probe mit einer durchschnittlichen Länge von 515 bzw. 511 Basen detektiert (Tab. 4.14).

Die analysierten Faeces-Proben enthalten primär die beiden dominanten Bakterienstämme Firmicutes und Bacteroidetes. Um Platteneffekte ausschließen zu können, wurde die Diversität zwischen den Proben der beiden Platten verglichen. In Abb. 4.8A sind

Rarefaction-Kurven der beiden Platten aufgezeigt. Wie zu erkennen ist, bestanden die einzelnen Proben aus 50 bis 250 OTUs, die bei der Sequenzierung generiert wurden. Die Darstellungen der Rarefaction-Kurven und der Boxplots in Abb. 4.8B zeigen, dass sich die Platten in ihrer Diversität nicht signifikant voneinander unterscheiden ($p=0,32$).

Tab. 4.14 Reads pro Probe und Read-Längen bei den zwei gemessenen Platten

Variablen	
Reads pro Probe	
Platte 1	20.180
Platte 2	23.076
Durchschnittliche Read-Länge	
Platte 1	515
Platte 2	511

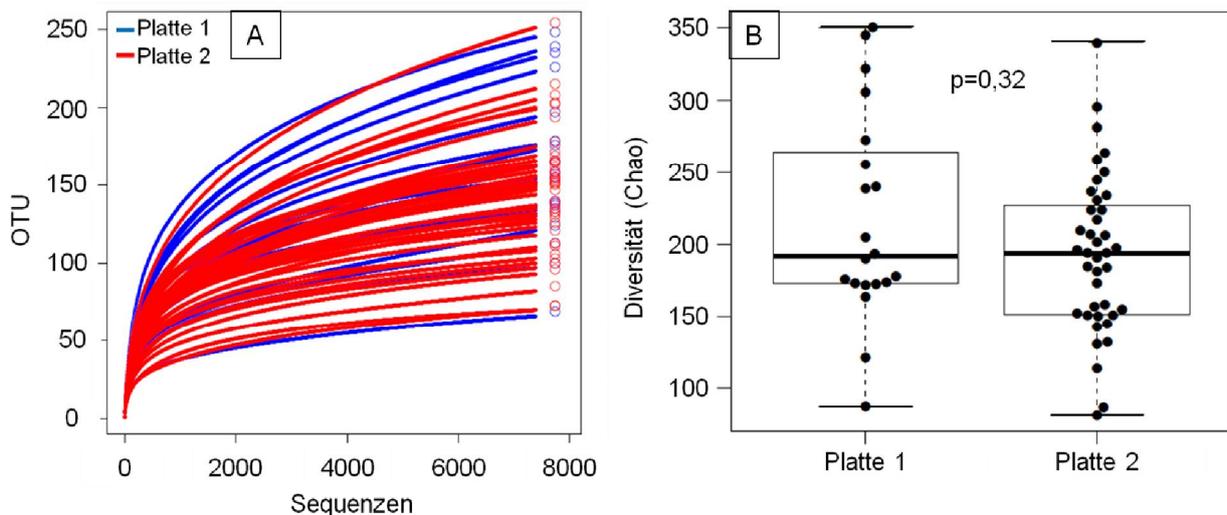


Abb. 4.8 Vergleich der bakteriellen Diversität der Faeces-Proben zwischen den beiden sequenzierten Platten durch die Darstellung der Rarefaction-Kurven mit OTUs (Operational Taxonomic Unit) (A) und Chao Plott (B), Werte dargestellt mittels Box-Plots (OTU-Level, IQR, Median).

4.5.3 Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms und das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

In diesem Abschnitt wird der Fragestellung nachgegangen, ob Frauen die nach einem GDM ein erhöhtes Risiko haben einen T2D zu entwickeln, sich in ihrem Mikrobiom pp von Frauen mit einem niedrigen postpartalen T2D-Risiko unterscheiden.

Diese Fragestellung wurde an 25 Frauen, bei denen ein GDM diagnostiziert wurde und alle notwendigen Daten zur Berechnung des T2D-Risikoscores vorlagen, untersucht. Die beiden häufigsten Bakterienstämme stellten hier Firmicutes und Bacteroidetes mit 48,5 % bzw.

42,5 % bei den Frauen der Hochrisikogruppe und mit 53,2 % und 37,5 % bei den Frauen der Niedrigrisikogruppe dar (Tab. 4.15).

Tab. 4.15 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am Darm-Mikrobiom bei Müttern der Hochrisiko- und der Niedrigrisikogruppe

Taxa	Niedrigrisikogruppe (MW %-Anteil) n=11	Hochrisikogruppe (MW %-Anteil) n=14	p	Padjustiert
Phylum				
Verrucomicrobia	2,30	1,16	0,13	0,59
Bacteroidetes	37,48	42,51	0,31	0,59
Firmicutes	53,15	48,50	0,37	0,59
Lentisphaerae	0,05	0,01	0,4	0,59
Synergistetes	1,64	0,25	0,49	0,59
Actinobacteria	1,81	1,60	0,51	0,59
Proteobacteria	3,57	5,98	0,87	0,87
Gattung				
Geopsychrobacter	0,00	0,03	0,01	0,82
Barnesiella	1,09	0,73	0,04	0,82
Veillonella	0,02	0,22	0,08	0,82
Streptococcus	0,10	0,74	0,08	0,82
Succinivibrio	0,00	0,59	0,09	0,82
Maritalea	0,20	0,00	0,09	0,82
Prevotella	5,08	10,47	0,09	0,82
Akkermansia	2,30	1,16	0,11	0,82
Lactobacillus	0,00	0,08	0,11	0,82
Bacteroides	24,77	20,91	0,64	0,94

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den max. 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert und nicht-adjustiert dargestellt.

Auch wenn die Unterschiede nicht signifikant waren, hatten Mütter der Niedrigrisikogruppe (n=11) einen höheren prozentualen Anteil an Firmicutes (53,2 vs. 48,5; p=0,37) und einen niedrigeren prozentualen Anteil an Bacteroidetes (37,5 vs. 42,5; p=0,31) als Frauen der Hochrisikogruppe (n=14). In der Gattungs-Ebene war dieser Trend bei den gewichtsassoziierten Lactobacillus ebenfalls zu sehen, wohingegen die Abundanz von Bacteroides bei Frauen der Hochrisikogruppe niedriger war als bei der Niedrigrisikogruppe (Lactobacillus: 0,08 vs. 0,00; p=0,11; Bacteroides: 20,91 vs. 24,77; p=0,64) (Tab. 4.15). Ein weiterer Trend konnte zwischen den beiden Gruppen hinsichtlich des bereits in der Literatur mit Übergewicht und T2D assoziierten Phylums Verrucomicrobia beobachtet werden. Das prozentuale Vorkommen des Phylums Verrucomicrobia wie auch der Klasse Verrucomicrobiae und Gattung Akkermansia war doppelt so hoch in Faeces-Proben von

Müttern der Niedrigrisikogruppe im Vergleich zu Müttern der Hochrisikogruppe (Phylum, Klasse und Gattung: 2,30 % vs. 1,16 %; $p > 0,05$). Bei Betrachtung der Bakteriendiversität zwischen Müttern der Hochrisikogruppe und Müttern der Niedrigrisikogruppe konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden (Abb. 4.9A). Ebenso konnten bei der Berechnung der in Abb. 4.9B abgebildeten Hauptkomponentenanalyse zur Similaritätsanalyse keine Cluster für die beiden Gruppen hinsichtlich ihrer bakteriellen Zusammensetzung ermittelt werden.

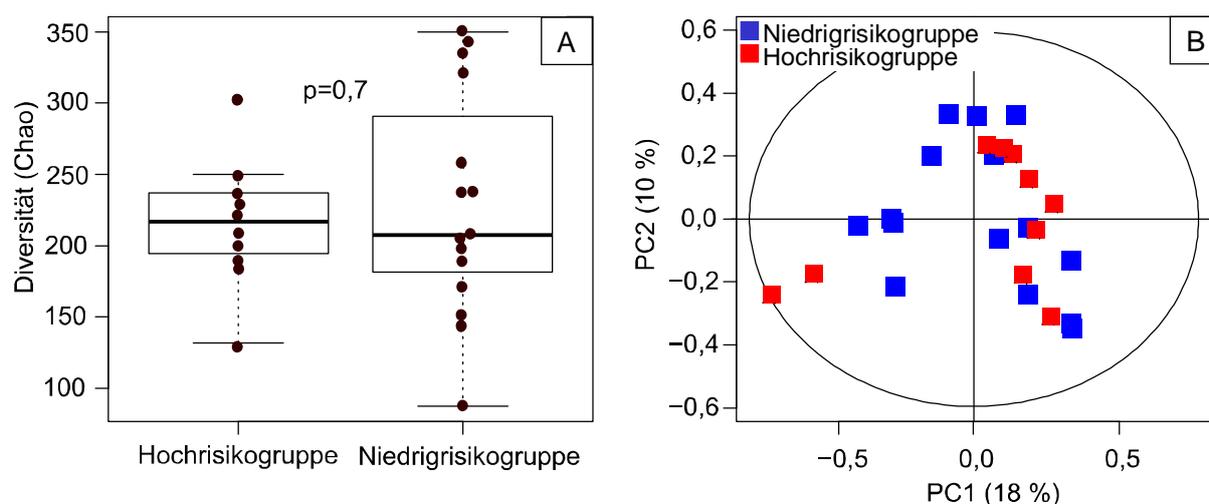


Abb. 4.9 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms (OTUs) der Mütter der beiden T2D-Risikogruppen, A: Unterschiede in der Diversität mittels Chao-Index, Werte dargestellt als Box-Plots (Median, IQR, OTU-Level) und B: Hauptkomponentenanalyse für die ersten beiden Hauptkomponenten der OTU-Profile geplottet. Die ersten beiden Komponenten beschreiben 28 % der Varianz, Hochrisikogruppe $n=11$, Niedrigrisikogruppe $n=14$.

Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms und der BMI der Mutter

Der BMI der Mutter ist ein Risikofaktor, der in die Berechnung des T2D-Risikoscores eingegangen ist und somit bereits hinsichtlich der Zusammensetzung des Mikrobioms untersucht wurde. Nachdem diesem Risikofaktor eine bedeutende Rolle bei der Entstehung eines postpartalen T2D zugeschrieben wird, wurde der BMI in der folgenden Fragestellung unabhängig von anderen Risikofaktoren betrachtet (Löbner et al., 2006, Ziegler et al., 2012).

Es wurde analysiert, ob ein Unterschied zwischen adipösen Müttern ($\text{BMI} \times 30 \text{ kg/m}^2$; $n=8$) und nicht-adipösen Müttern ($\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$; $n=17$) in der Zusammensetzung ihres Darm-Mikrobioms zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung zu erkennen ist. Die adipösen Mütter unterschieden sich in der Diversität ihres Darm-Mikrobioms nicht von den nicht-adipösen Müttern und es konnten auch in der Hauptkomponentenanalyse keine eindeutigen Cluster für diese beiden Gruppen gefunden werden (Abb. 4.10).

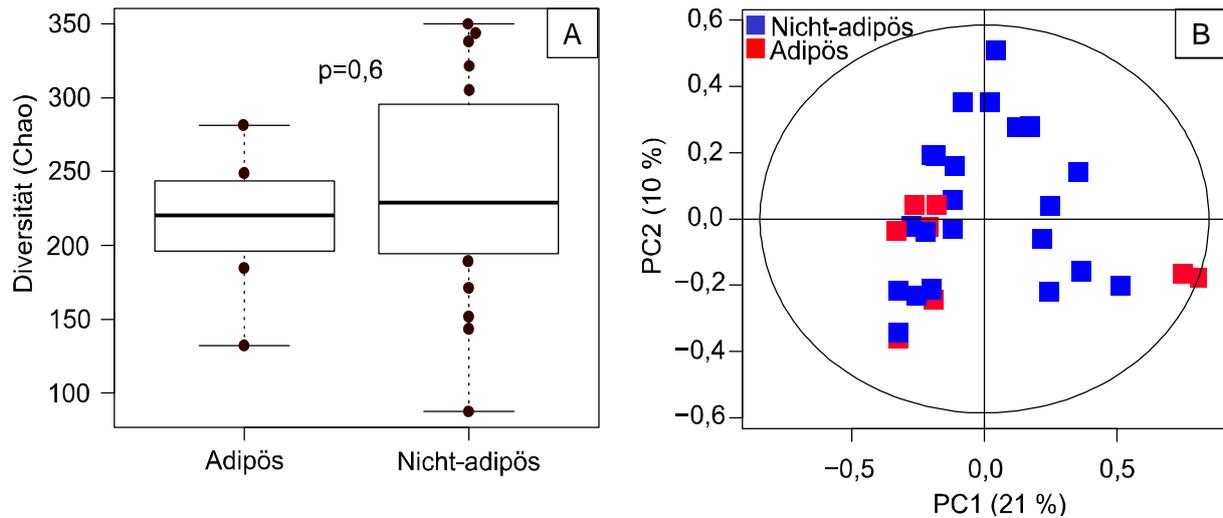


Abb. 4.10 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms zwischen adipösen und nicht-adipösen Müttern, A: Unterschiede in der Diversität mittels Chao-Index, Werte dargestellt als Box-Plots (Median, IQR, OTU-Level) und B: Hauptkomponentenanalyse für die ersten beiden Hauptkomponenten der OTU-Profile geplottet. Die ersten beiden Komponenten beschreiben 31 % der Varianz, adipös n=8, nicht adipös n=17.

Die Bacteroidetes kamen bei den adipösen Müttern mit 43,8 % im Median etwas häufiger vor als bei den nicht-adipösen Müttern mit 39,3 % (Anhang: Tab. 8.15). Den höchsten prozentualen Anteil der Bakterien, die im Darm-Mikrobiom nachgewiesen wurden, hatte bei beiden Gruppen das Phylum Firmicutes. Das Vorkommen in der adipösen Gruppe (n=8) lag bei 45,6 % und in der nicht-adipösen Gruppe (n=17) im Trend etwas höher bei 52,6 % (p=0,35; Anhang: Tab. 8.15). In der Ordnungs- (Lactobacillales p=0,029) bis hin zur Gattungsebene (Lactobacillus p=0,019) war die relative Abundanz nach Adjustierung für multiples Testen bei Frauen mit einem BMI < 30 kg/m² signifikant niedriger als bei Frauen mit einem BMI ≥ 30 kg/m² (Abb. 4.11).

Einen signifikanten Unterschied, auch nach Adjustierung für multiples Testen, zeigte sich zwischen den beiden BMI-Gruppen in der Phylum-Ebene Verrucomicrobia (p=0,045) sowie in der Klassen- (Verrucomicrobiae; p=0,037) und Ordnungsebene (Verrucomicrobiales; p=0,029) (Abb. 4.11 und Anhang: Tab. 8.15). Auch in der Gattungsebene wiesen adipöse Frauen im Median prozentual weniger Akkermansia (Phyla Verrucomicrobia) auf als die nicht-adipösen Frauen (Akkermansia: 0,148 % vs. 2,427 %, p=0,045).

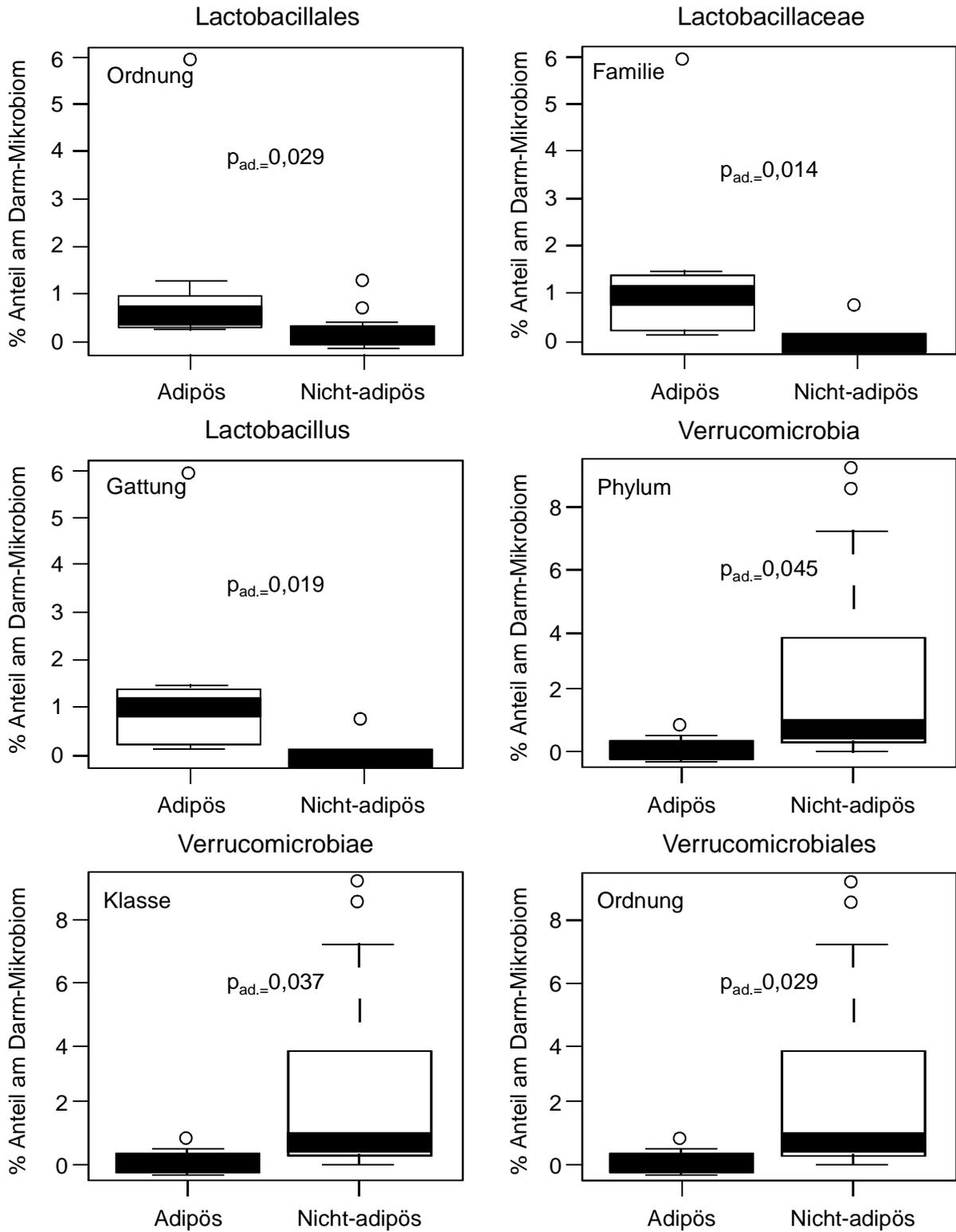


Abb. 4.11 Unterschiede im Vorkommen der Firmicutes und Verrucomicrobia bei adipösen Frauen und nicht-adipösen Frauen. Dargestellt als prozentualer Anteil aller Bakterien der Probe, Boxplot (IQR, Median).

4.5.4 Mutter-Kind-Paare

In diesem Abschnitt wird der Fragestellung nachgegangen, ob es Ähnlichkeiten im Darm-Mikrobiom von Müttern und deren Kindern gibt.

Um zu untersuchen, ob gepaarte Mutter-Kind-Proben ähnlicher sind als ungepaarte Mutter-Kind-Proben, wurden für alle Mutter-Kind-Paare ($n=30$) und alle möglichen Kombinationen ungepaarter Mutter-Kind-Kombinationen Bray-Curtis-Distanzen geschätzt (Abb. 4.12A).

Nicht nur beim Vergleich der OTUs sondern auch auf Familien- und Gattungs-Ebene zeigte sich, dass sich die Mutter-Kind-Paare signifikant in ihrem Darm-Mikrobiom ähnlicher waren als ungepaarte Mutter-Kind-Paare (OTU $p=0,0071$; Familie $p=0,0081$; Gattung $p=0,0082$).

Das Alter der Kinder zeigte hierbei keinen Einfluss, denn das Darm-Mikrobiom der gepaarten Mutter-Kind-Paare war sich bei jüngeren Kindern nicht ähnlicher als bei älteren (Abb. 4.12B).

Obwohl mit den Bray-Curtis-Distanzen gezeigt werden konnte, dass sich gepaarte Mutter-Kind-Proben hinsichtlich verschiedener taxonomischer Ebenen signifikant ähnlicher waren als nicht-verwandte-Paare, konnte das nicht für alle einzelnen Mutter-Kind-Proben in einer PCA bestätigt werden (Abb. 4.13). In der PCA ist zu sehen, dass zwar viele Paare sehr nah zusammen sind, jedoch sind auch einige der Paare weit voneinander entfernt in der PCA abgebildet.

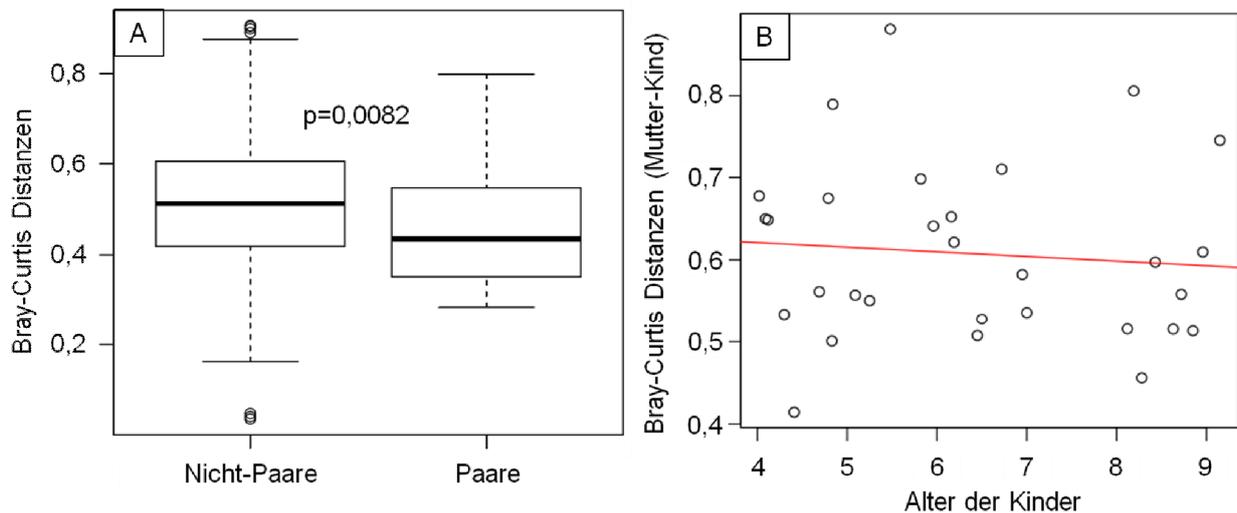


Abb. 4.12 A: Vergleich der Bray-Curtis Distanzen (Gattung) zwischen Mutter-Kind-Paaren und allen anderen nicht-verwandten-Paaren, B: Regression der Bray-Curtis Distanzen aller gepaarten Mutter-Kind-Proben bezogen auf das Alter der Kinder A: Werte dargestellt mittels Box-Plots (IQR, Median).

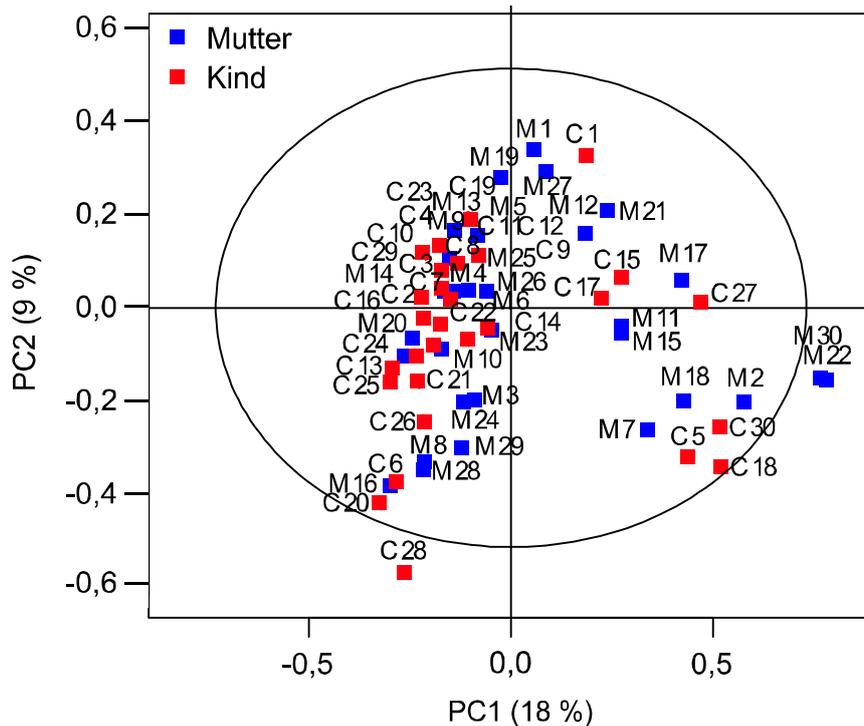


Abb. 4.13 Hauptkomponentenanalyse (PCA) zur Analyse der Similarität des Darm-Mikrobioms (OTUs) bei Mutter-Kind-Paaren. Daten der Mutter-Kind-Paare (n=30) wurden für die ersten beiden Hauptkomponenten der OTU-Profile geplottet. Die ersten beiden Komponenten beschreiben 27 % der Varianz. Die Proben der Kinder sind mit C gekennzeichnet und die der Mütter mit M, jedes Mutter-Kind-Paar trägt die gleiche Nummer (durchnummeriert von 1 bis 30).

4.5.5 Einfluss des postpartalen T2D-Risikos der Mutter auf das kindliche Mikrobiom

In den beiden folgenden Fragestellungen wurde das Mikrobiom der Kinder in dieser Subkohorte untersucht. Zuerst wurde der Frage nachgegangen, ob Kinder von Müttern mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko (n=11) sich in ihrem Darm-Mikrobiom von Kindern mit Müttern ohne erhöhtes Risiko unterscheiden (n=14).

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass sowie bei den Müttern auch bei den Kindern die beiden Bakterienstämme Firmicutes und Bacteroidetes am Häufigsten vorkamen. Kinder von Müttern der T2D-Hochrisikogruppe wiesen ein Darm-Mikrobiom mit 45,0 % Firmicutes und 49,1 % Bacteroidetes auf, wohingegen bei der T2D-Niedrigrisikogruppe der prozentuale Anteil bei 50,1 % bzw. 44,4 % lag. Der Vergleich beider Gruppen hinsichtlich ihrer Artenvielfalt, zeigte weder in der berechneten Diversität, noch bei der Betrachtung der PCA zwischen diesen beiden T2D-Risikogruppen signifikante Unterschiede (Abb. 4.14).

Die Kinder, deren Mütter der Hoch- und Niedrigrisikogruppe angehörten, unterschieden sich nicht in der Häufigkeit der einzelnen Bakterienstämme (Anhang Tab. 8.16).

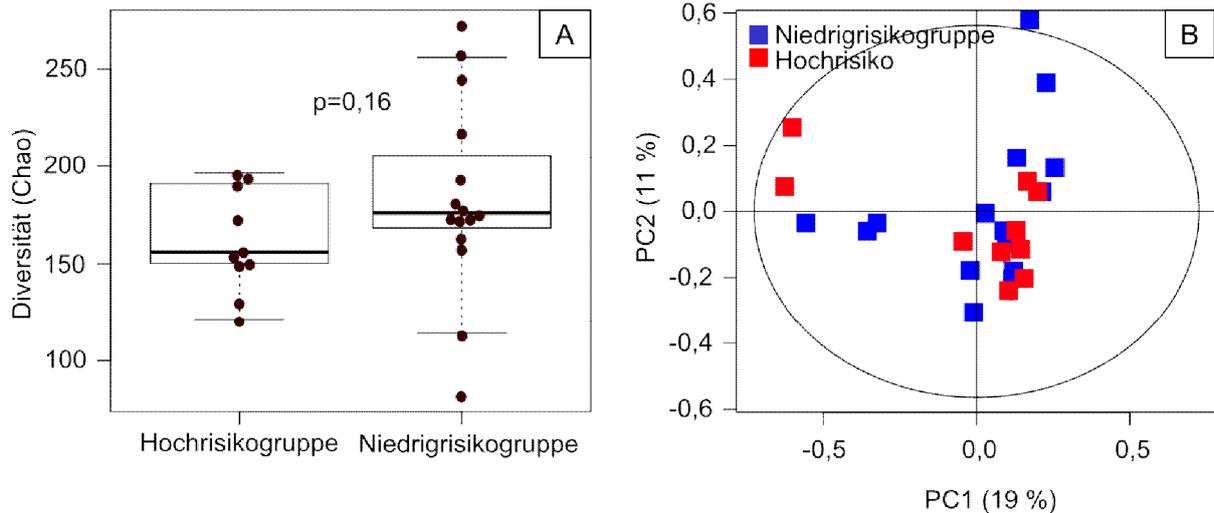


Abb. 4.14 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms zwischen Kindern von Müttern der Hoch- und der Niedrigrisikogruppe, A: Unterschiede in der Diversität mittels Chao-Index, Werte dargestellt als Box-Plots (IQR, Median, OTU-Level) und B: Hauptkomponentenanalyse für die ersten beiden Hauptkomponenten der OTU-Profile geplottet. Die ersten beiden Komponenten beschreiben 30 % der Varianz, Kinder von Müttern der Hochrisikogruppe $n=11$ und Niedrigrisikogruppe $n=14$.

Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms bei Kindern und der mütterliche BMI

In der letzten Fragestellung wurde untersucht, ob sich Kinder von adipösen Müttern ($\text{BMI} \times 30 \text{ kg/m}^2$; $n=8$) hinsichtlich ihres Darm-Mikrobioms von Kindern nicht-adipöser Mütter ($\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$; $n=17$) unterscheiden. Die beiden dominanten Bakterien-Phyla Firmicutes und Bacteroidetes entsprachen bei beiden Gruppen jeweils etwa 45 % des Darm-Mikrobioms. Die Abundanzen der Bakterienstämme und auch der Gattungen wiesen zwischen den beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede auf (Anhang: Tab. 8.17). Der Chao-Index zeigte keine signifikanten Unterschiede in der Diversität ($p=0,6$) und auch in der PCA waren keine Cluster für die beiden Gruppen zu finden (Abb. 4.15). Die bisher in der Literatur mit BMI-assoziierten Actionabacteria lagen bei Kindern adipöser Mütter höher und Bacteroidetes bei Kindern nicht-adipöser Mütter niedriger.

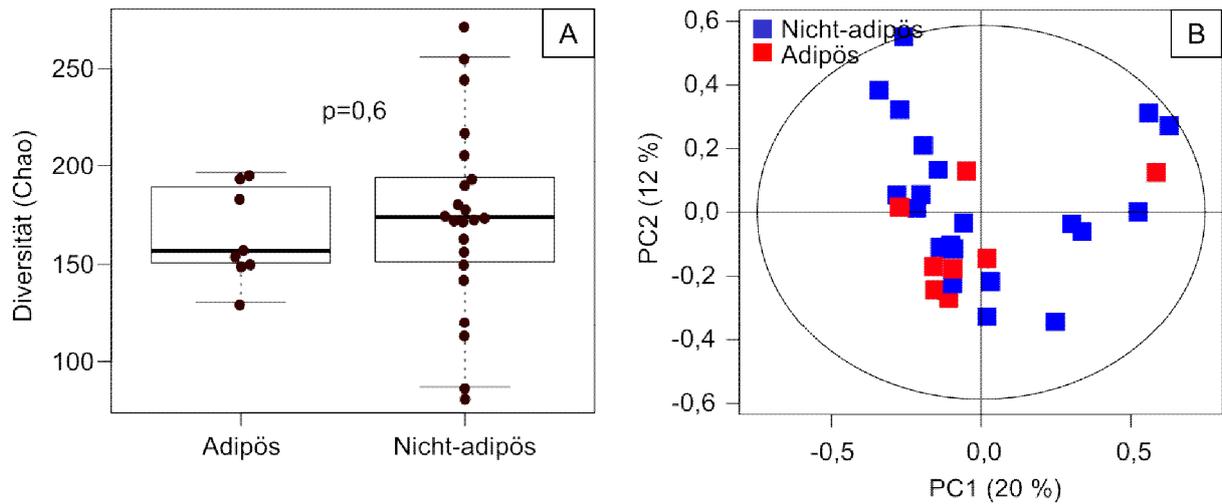


Abb. 4.15 Vergleich der Diversität der bakteriellen Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms zwischen Kindern von adipösen Müttern und von nicht-adipösen Müttern, A: Unterschiede in der Diversität mittels Chao-Index, Werte dargestellt als Box-Plots (IQR, Median, OTU-Level) und B: Hauptkomponentenanalyse für die ersten beiden Hauptkomponenten der OTU-Profile geplottet. Die ersten beiden Komponenten beschreiben 32 % der Varianz, adipöse Mütter ($\text{BMI} \times 30 \text{ kg/m}^2$) $n=8$, nicht-adipöse Mütter ($\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$) $n=17$.

5. Diskussion

GDM gehört mit einer Prävalenz von ca. 5% zu den häufigsten endokrinologischen Stoffwechselerkrankungen in der Schwangerschaft (Kleinwechter et al., 2011). Diese Erkrankung ist nicht nur mit akuten Komplikationen während der Schwangerschaft und Geburt verbunden, sondern auch nach der Entbindung weisen die Mütter mit GDM und ihre Kinder ein erhöhtes Risiko auf, T2D bzw. Übergewicht zu entwickeln.

Als mögliche Einflussfaktoren für die postpartale Entwicklung eines T2D werden bei den Müttern Übergewicht, Therapieform während der Schwangerschaft, Stillverhalten, Ernährungsverhalten, Alter der Mutter, sozioökonomischer Status und Ethnizität diskutiert (Ben-Haroush et al., 2004, Huy et al., 2012, Schäfer-Graf et al., 2002). Bei ihren Kindern werden unter anderem mütterliche Adipositas und genetische Einflüsse postuliert (Lawlor et al., 2010, Kleiser et al., 2009, Pallardo et al., 1999). Faktoren, die das Langzeit-T2D-Risiko der Mütter beeinflussen und für das erhöhte kindliche Adipositasrisiko verantwortlich sind, sind bislang noch nicht ausreichend erforscht.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, Einflussfaktoren und Mechanismen auf die Entstehung von T2D bei Müttern nach einem GDM und auf die Entwicklung von Übergewicht bei ihren Nachkommen zu untersuchen. Im Focus dieser Arbeit stand bei den Müttern der Einfluss des Stillens und der postpartalen Ernährung auf das Risiko einen T2D pp zu entwickeln. Gleichzeitig wurde bei Kindern von Müttern mit GDM der Einfluss von T2D-assoziierten Genen auf das Übergewichtsrisiko sowie die Bedeutung des Darm-Mikrobioms für die gesundheitliche Entwicklung der Kinder und Mütter analysiert. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde diesen Fragestellungen mit dem bereits etablierten prospektiven deutschen GDM-Kollektiv und der dafür initiierten POGO-Kohorte mit der dazugehörigen Biobank und neuen Untersuchungsmethoden nachgegangen.

5.1 Stillen als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

Die prospektive deutsche GDM-Studie ermöglichte es erstmals, den Effekt des Stillens bei Frauen mit GDM auf die langfristige Entwicklung eines T2D pp über einen Zeitraum von fast 20 Jahren zu untersuchen. Deshalb war das Ziel dieses Projektes herauszufinden, ob durch Stillen langfristig eine protektive Wirkung in Bezug auf die Entstehung von T2D bei Frauen mit GDM erzielt werden kann. Weiterhin sollte untersucht werden, welche Rolle dabei das Gewicht der Mutter sowie die Therapieform in der Schwangerschaft einnimmt.

In der untersuchten Studienpopulation entwickelten 147 Frauen (48,4 %) einen T2D pp. Im Rahmen dieser Arbeit konnte beobachtet werden, dass Stillen das T2D-Risiko um 40 %, aber nur bei Inselautoantikörper-negativen Frauen, senkt. Dies ist die erste Untersuchung, die in multivariaten Analysen zeigen konnte, dass Frauen mit einem BMI ≥ 30 kg/m² mehr vom Stillen profitierten als adipöse Frauen (Tab. 4.2). Adipositas ist ein starker Faktor der mit einem erhöhten T2D-Risiko im Zusammenhang steht (Schienkiewitz et al., 2006). Aber nicht nur der BMI, sondern auch die Therapie in der Schwangerschaft hat einen Einfluss auf den Stilleffekt. Der Effekt des Stillens war bei Frauen, die während der Schwangerschaft diätetisch und nicht mit Insulin behandelt worden sind, stärker (Tab. 4.2). Genauso wie Adipositas ist auch die Insulintherapie mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko assoziiert (Ben-Haroush et al., 2004). Es scheint, dass Frauen die ein geringeres Ausgangsrisiko für die Entwicklung eines T2D haben, am meisten vom Stillen profitieren.

Wie bereits in der Literatur beschrieben, stillen Frauen mit GDM signifikant seltener und kürzer als nichtdiabetische Frauen (Hummel et al., 2008, Finkelstein et al., 2013). Speziell Frauen mit Insulintherapie während der Schwangerschaft sowie Übergewichtige stillen laut Literatur und nach den Beobachtungen dieser Arbeit kürzer (Finkelstein et al., 2013). Die Ursachen hierfür können verschiedenen Ursprungs sein. Dazu zählt eine Verzögerung der Milchsekretion, die das Stillen erschwert. Die Verzögerung der Milchsekretion wurde bei übergewichtigen/adipösen Frauen wie auch bei mit Insulin behandelten Frauen beobachtet (Neubauer et al., 1993, Rasmussen und Kjølhede, 2004). Aber auch die erhöhte Rate an Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen bei Müttern mit GDM scheinen die Stillrate zu senken (Prior et al., 2012). Trotz der niedrigen Stillquote in dieser Kohorte konnten wir über die Rekrutierungszeit einen Anstieg des Stillens bei den Müttern feststellen (72 % vs. 82 %, $p=0,04$). Noch größer war dieser Effekt unter Berücksichtigung des Vollstillens (53 % vs. 72 %, $p=0,003$). Dabei deckten sich die Beobachtungen dieser Arbeit mit denen in

Deutschland und in anderen Ländern (Ryan et al., 2002, Lange et al., 2007a). In unserer Studienpopulation war auch nach Adjustierung für den Rekrutierungszeitraum das Stillen stark mit einem gesenkten Risiko für die postpartale Entwicklung eines T2D pp assoziiert. Basierend auf dem Beschluss der WHO, der die Errichtung nationaler Komitees zur Förderung des Stillens zum Ziel hatte, erfolgte 1994 die Gründung der nationalen Stillkommission. Die Schaffung der nationalen Stillkommission hat vermutlich zu einem Wandel im Stillverhalten beigetragen (WHO/UNICEF, 1990).

Kurzzeitige Effekte, die durch das Stillen hervorgerufen werden können, wurden bereits in einigen Studien untersucht. In einer älteren Querschnittstudie mit 809 lateinamerikanischen Frauen mit GDM postulierte Kjos et al. (1993), dass Stillen den Glukose- und Lipidstoffwechsel verbessert. Dabei wurde nur eine Stilldauer von vier bis zwölf Wochen untersucht und für die Faktoren: Alter der Mutter, BMI und Insulintherapie während der Schwangerschaft adjustiert. Die Gruppe der stillenden Frauen wies vier bis zwölf Wochen nach der Geburt signifikant kleinere AUCs für Glukose, niedrigere Nüchtern-Glukosewerte im Serum (Mittelwert), niedrigere zwei-Stunden Glukosewerte (Mittelwert) und höhere HDL-Werte (Mittelwert, Lipoprotein-Cholesterolverte mit hoher Dichte) im Serum auf, als die Mütter die nicht stillten. Ein großer Nachteil dieser Studie ist, dass etwa 50 % der Mütter zum Zeitpunkt des OGTTs noch stillten. Somit ist unklar, ob die Ergebnisse langanhaltende Effekte des Stillens sind, oder nur den Stoffwechsel während des Stillens widerspiegeln. Die Ergebnisse von Gunderson et al. (2012) sprechen für einen direkten Einfluss von Stillen auf den Glukose- und Insulinstoffwechsel. Die zwei-Stunden-Werte für Glukose und Insulin waren beim Stillen während der Durchführung eines OGTTs gesenkt.

In einer weiteren retrospektiven Querschnittstudie mit 351 prämenopausalen Frauen wurde der Effekt des Stillens im Zusammenhang mit dem viszeralen Fett analysiert (McClure et al., 2011). Frauen die mindestens drei Monate stillten, wiesen ein geringeres Vorkommen an stoffwechselaktivem viszeralem Fett auf, als diejenigen die nicht stillten. In unserer Untersuchung war ein erhöhter BMI bei den Müttern mit einer kürzeren Stilldauer assoziiert. Die Stilldauer hatte nach Adjustierung für den BMI einen protektiven Effekt hinsichtlich des T2D-Risikos. Interessanterweise stand auch der BMI nach der Schwangerschaft mit dem Stillen im Zusammenhang, jedoch nicht mit der postpartalen BMI-Entwicklung. Vermutlich ist dieser Unterschied in der Körperfettverteilung keine Folge des Stillens, sondern ein sekundärer Effekt, der auf den Unterschieden in der Verteilung vor der Schwangerschaft beruht.

Die vorliegende Studie ist die einzige prospektive Studie, die den schützenden Effekt des

Stillens auf die Entwicklung von T2D nach einem GDM für einen Zeitraum von 19 Jahren bei Müttern mit Hilfe eines standardisierten OGTT untersucht hat. Bisher sind nur drei weitere Studien publiziert, die den Effekt des Stillens auf die postpartale Entwicklung von T2D noch nach dem Abstillen untersucht haben (Kjos et al., 1995, Buchanan et al., 1999, Stuebe et al., 2005).

In einer retrospektiven Studie von Kjos et al. (1995) wurden 671 lateinamerikanischen Frauen mit vorangegangenem GDM über einen Zeitraum von 7,5 Jahren pp untersucht. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Stillen und der Entstehung von T2D innerhalb der Nachuntersuchungszeit gefunden werden.

In einer longitudinalen Untersuchung konnte bei 91 Frauen in einem Zeitraum von 11 bis 26 Monaten pp ebenfalls keine Assoziation zwischen einem diagnostizierten T2D und dem Stillverhalten gezeigt werden (Buchanan et al., 1999). Bei beiden beschriebenen Studien wurden die Diagnosen anhand eines standardisierten 75 g OGTT gestellt. Vermutlich ist vor allem bei der Studie von Buchanan et al. (1999) die Beobachtungszeit von bis zu 26 Monaten nach dem GDM nicht ausreichend, um Unterschiede in der Entwicklung von T2D in diesen Gruppen zu ermitteln. Vorangegangene Untersuchungen der prospektiven deutschen GDM-Studie konnten zeigen, dass nur etwa 30 % der Frauen innerhalb von zwei Jahren pp einen T2D entwickelten (Löbner et al., 2006).

In einer retrospektiven Beobachtungskohorte (Nurses Health Study II) wurde eine Subgruppe mit mehr als 3000 Frauen mit vorangegangenem GDM mittels Fragebögen (Stillkategorien: nicht gestillt, > 0 bis 3, > 3 bis 6, > 6 bis 11, > 11 bis 23 und > 23 Monate) bis zu 14 Jahre beobachtet (Stuebe et al., 2005). In dieser Untersuchung zeigte Stillen keinen Effekt auf die Entwicklung von T2D. Dagegen wurde bei einem Kollektiv mit mehr als 50.000 Frauen ohne GDM ein negativer Zusammenhang zwischen Stillen und T2D ermittelt. Dieser Effekt war ab einer Stilldauer von sechs Monaten zu sehen. Das Risiko für T2D reduzierte sich um 15 % für jedes Jahr, das gestillt wurde.

Vermutlich sind die kontroversen Ergebnisse den Unterschieden im Studiendesign der einzelnen Studien zuzuschreiben (z.B. fehlende Standardisierung der OGTTs, unterschiedlich detaillierte Messungen des Stillens in Dauer und Intensität, selbstberichtete GDM und T2D Diagnosen, unzureichender Nachuntersuchungszeitraum, retrospektives Studiendesign und eine damit verbundene Erinnerungsverzerrung).

Bisher ist nur wenig über die Mechanismen bekannt, die dem protektiven Effekt des Stillens zu Grunde liegen. Unklar ist auch, auf welche Weise diese Mechanismen einen langfristigen Schutz vor T2D bieten könnten. Die meisten relevanten Studien basieren auf Mausmodellen.

In einer dieser Studien wird der risikosenkende Effekt durch Veränderungen in der Brustdrüse erklärt, die während des Stillens sehr sensitiv auf Insulin reagiert und Insulinrezeptoren exprimiert (Jones et al., 1984). In diesem Zusammenhang wurde Stillen mit einer Senkung der Blutglukose und Reduzierung der Insulinkonzentration im Plasma sowie mit einer verbesserten Insulinresistenz in Mausmodellen assoziiert (Burnol et al., 1986, Jones et al., 1984). Jones et al. (1984) vermutet die Ursache des gesenkten Insulinspiegels im Plasma während des Stillens primär in der gesteigerten Insulinsensitivität, die durch den erhöhten Glukoseabbau in der Brustdrüse bedingt ist.

In einer Humanstudie von Butte et al. (1999) wird postuliert, dass zirkulierende Glukose bevorzugt über einen Insulin-unabhängigen Stoffwechselweg in die Brustdrüse umgeleitet werden kann. Die Glukose wird in der Brustdrüse zur Lactogenese benötigt. Dadurch wird vermutlich die Anhäufung von Glukose reduziert und bewahrt eine langanhaltende Insulinproduktion. Weiterhin werden auch Hormone wie Prolaktin oder Serotonin mit der Regulation der Insulinsekretion, Glukose-Homöostase sowie in der Regulierung der -Zellmasse in Verbindung gebracht (Crepaldi et al., 1997, Kim et al., 2010a).

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass Frauen mit GDM, unabhängig von ihrem BMI, die während der Schwangerschaft mit Insulin therapiert wurden, ein deutlich erhöhtes T2D-Risiko pp aufwiesen. Bei mehr als 90 % der Frauen wurde eine Entwicklung von Diabetes innerhalb von 15 Jahren nach einem GDM prognostiziert, wobei im Median deren Diabetes-freie-Zeit bei weniger als 2,5 Jahren lag. Der Grund für dieses hohe T2D-Risiko ist vermutlich dem erhöhten Insulinmangel zuzuschreiben, der sich bei diesen Frauen bereits in der Schwangerschaft gezeigt hat. Weitere Studien sind notwendig um diese Ergebnisse zu stärken.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung, dass Stillen das Risiko, einen T2D pp zu entwickeln, bei Frauen mit GDM langfristig senkt. Stillen stellt eine günstige Intervention bei Frauen mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko dar. Speziell Frauen mit GDM sollten professionell beraten, wie auch über den schützenden Effekt des Stillens informiert und dadurch zum Stillen ermutigt werden.

5.2 Einfluss von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM

Frühere Studien haben gezeigt, dass die T2D-Risikogene *HHEX-IDE* und *CDKALI* einen Einfluss auf die Gewichtsentwicklung der Kinder haben (Winkler et al., 2010a, Zhao et al.,

2010). Ziel der hier durchgeführten Auswertung war es, zu untersuchen, ob diese Gene auch die Gewichtsentwicklung der Kinder von Müttern mit GDM beeinflussen und ob eine Interaktion mit einer mütterlichen Adipositas besteht. Dieser Fragestellung wurde anhand der prospektiven deutschen GDM-Studie nachgegangen. Es handelt sich dabei um die erste Studie, die den Effekt von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung von Kindern, die einem GDM ausgesetzt waren, untersucht hat.

In der vorliegenden Analyse zeigten weder die beiden T2D-Risikoallele *HHEX-IDE* und *CDKAL* noch der zur Kontrolle gemessene *SCL30A8* Loci einen signifikanten Einfluss auf die Geburtsgewichtszentilen bei Kindern von Müttern mit GDM. Jedoch konnte hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Gewichtsentwicklung in der Altersspanne von 1,0 bis 2,3 Jahren bei Kindern von Müttern mit GDM und dem T2D-Risikoallel an der *HHEX-IDE* Genregion gezeigt werden. Jedes Risikoallel des *HHEX-IDE* Locus führte zu einer Senkung des BMI-SDS. Dieses Ergebnis blieb auch nach Adjustierung für LGA, mütterlichen BMI am Anfang der Schwangerschaft, Alter und Geschlecht signifikant. Am stärksten war dieser Effekt bei Kindern bis zu einem Alter von 2,3 Jahren und bei Kindern von Müttern mit einem BMI < 30 kg/m² am Anfang der Schwangerschaft.

Damit bestätigen diese Daten die Ergebnisse einer Studie die bei Kindern von Eltern mit T1D gewonnen wurden (Winkler et al., 2010a). Winkler et al. (2010a) konnten bei Kindern von Eltern mit T1D einen Zusammenhang zwischen einem verringerten BMI und dem T2D-assoziierten Genotyp am *HHEX-IDE* Locus, aber auch am *CDKAL* Locus zeigen. Bereits mehrere Studien wiesen darauf hin, dass ein Zusammenhang zwischen dem Geburtsgewicht, dem Wachstum und dem BMI in der Kindheit besteht (Hirschler et al., 2008, Hediger et al., 1999). Winkler et al. (2010a) vermuten in dieser Hinsicht, dass sowohl *HHEX-IDE*, als auch der *CDKALI* Locus im Zusammenhang mit dem Wachstum bei Kindern aber auch schon beim Fötus steht.

Jedoch wurden in der Literatur die Assoziationen zwischen dem T2D-Risikoallel am *HHEX-IDE* Locus und dem Geburtsgewicht sowie dem kindlichen BMI kontrovers diskutiert. In einer Untersuchung von Zhao et al. (2010) konnte bei zwei- bis sechsjährigen Kindern ein Zusammenhang zwischen dem T2D-Risikoallel am *HHEX-IDE* Locus und einem erhöhten BMI gesehen werden. Im Gegensatz dazu deckten sich die Ergebnissen der vorliegenden Arbeit mit den beschriebenen Befunde von Winkler et al. (2010a).

Bei dem Vergleich der Studienergebnisse ist zu bedenken, dass in der Studie von Zhao et al. (2010) Kinder der Allgemeinbevölkerung, bei Winkler et al. (2010a) Kinder von Eltern mit T1D und bei der vorliegenden Auswertung Kinder von Müttern mit GDM untersucht wurden.

Im Gegensatz zu Kindern der Allgemeinbevölkerung und zu Kindern von Eltern mit T1D liegt bei Kindern von Müttern mit GDM häufiger mütterliches Übergewicht zu Beginn der Schwangerschaft vor. Dies ist ein Faktor, der als Hauptprädiktor für die spätere Entwicklung von Übergewicht bei Kindern von Müttern mit GDM der prospektiven deutschen GDM-Studie identifiziert wurde (Boerschmann et al., 2010). Eine erst kürzlich publizierte Analyse von 7355 Mutter-Kind-Daten der deutschen Perinatal Prevention of Obesity Kohorte zeigte, dass GDM das Risiko für Übergewicht bei Kindern unabhängig vom mütterlichen BMI steigert (Nehring et al., 2013).

Nachdem der BMI-reduzierende Effekt des T2D-Risikoallels am *HHEX-IDE* Gen nicht bei Kindern von Müttern mit einem mütterlichen BMI von $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ am Anfang der Schwangerschaft beobachtet werden konnte, ist anzunehmen, dass gemeinsame Lebensstilfaktoren die Gewichtsentwicklung stärker beeinflussen, als T2D-Risikogene. Die Tatsache, dass der genetische Einfluss nicht während der Pubertät zu sehen war, lässt annehmen, dass sich der Zusammenhang zwischen gesenkten BMI und T2D-assoziierten Allelen des *HHEX-IDE* Locus in der frühen Kindheit zu einem erhöhten BMI im Erwachsenenalter verschiebt. Diese Entwicklung würde eher dem zugeschriebenen Effekt des mit T2D-assoziierten Genotyps entsprechen.

Das *HHEX-IDE* Gen kodiert für ein Protein, das eine Rolle in der Entwicklung der β -Zellen einnimmt (Pascoe et al., 2007). Eine Mutation in der *HHEX-IDE* Genregion führt zu einer gestörten β -Zellfunktion, wodurch die Insulinsekretion beeinflusst wird (Schulze et al., 2007, Pulizzi et al., 2009). Welchen mechanistischen Effekt dabei dieses T2D-assoziierte Risikoallel auf das kindliche Geburtsgewicht und die Gewichtsentwicklung hat, ist bislang unklar.

Die hier vorliegende Untersuchung ist durch die geringe Fallzahl limitiert. Es ist nicht auszuschließen, dass dadurch die Power zum Nachweis statistisch gesicherter Zusammenhänge zu gering war. Zur Validierung der Analyse ist eine Untersuchung der Daten der POGO-GDM-Kohorte und eine Kooperation mit einer finnischen Geburtskohorte geplant. Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass ein BMI-reduzierender Effekt im Zusammenhang mit dem T2D-assoziierten Risikoallel des *HHEX-IDE* Locus bei Kindern von Müttern mit GDM besteht. Jedoch konnte dieser Zusammenhang nur bei Vorliegen eines mütterlichen BMIs von $< 30 \text{ kg/m}^2$ in einem Alter von 1,0 bis 2,3 Jahren bei den Kindern beobachtet werden. Zwischen den T2D-assoziierten Allelen des *CDKAL* und *SCL30A8* Loci konnte kein Einfluss hinsichtlich der Geburtsgewichtspersentilen und kindlichen BMI gefunden werden.

5.3 Etablierung der POGO-Kohorte

Ergänzend zur prospektiven deutschen GDM-Studie wurde im Rahmen dieser Arbeit eine neue Studie, die POGO-Studie entwickelt und etabliert. Mithilfe dieser Studie konnte die Erhebung von Lebensstilfaktoren sowie die Etablierung einer umfangreichen Biobank für neue Forschungsansätze ermöglicht werden. Anhand der neu gewonnenen Daten wurden in den Projekten 4 und 5 dieser Arbeit die Ernährung der Mütter mit GDM sowie der Einfluss des Darm-Mikrobioms bei Mutter und Kind auf die gesundheitliche Entwicklung untersucht.

Die POGO-Studie konnte erfolgreich implementiert werden. Bis zum Sommer 2013 wurden 121 Mütter, davon 105 mit GDM und 133 Index-Kinder (Kinder bei denen Daten zum GDM-Screening in der Schwangerschaft vorliegen) in die POGO-Studie eingeschlossen. Die Berechnung der Soll-Verteilung des BMIs nach dem Satz von Bayes verdeutlichte, dass die POGO-Kohorte hinsichtlich des BMIs der Mütter am Anfang der Schwangerschaft repräsentativ für ein GDM Kollektiv ist. Diese Kohorte lag bezogen auf das Alter der Mütter mit 34,4 Jahren durchschnittlich etwas höher als in einer bayerischen Studie, in der das Alter der Mütter 30,7 Jahre betrug (Nehring et al., 2013). Auch waren die Mütter der prospektiven deutschen GDM-Studie mit einem Alter von 31,0 Jahren jünger als die der POGO-Studie (Löbner et al., 2006).

Der Anteil der Mütter mit GDM, die während der Schwangerschaft mit Insulin behandelt werden mussten, deckte sich mit dem Anteil der vorangegangenen prospektiven deutschen GDM-Studie. Im Gegensatz zu der prospektiven deutschen GDM-Studie, wie auch zu anderen GDM-Studien, stillten fast alle POGO-Mütter (91,5 % vs. 76,1 %) (Ryan et al., 2002). Sehr deutlich ist in der POGO-Kohorte der Anstieg in der Stilldauer zu sehen. In dieser Studie stillten 82,9 % der Mütter mindestens drei Monate wohingegen bei der prospektiven deutschen GDM-Studie nur 41,3 % der Mütter drei Monate lang stillten.

Die Bildung eines Sozialen-Schicht-Indexes hat interessanterweise gezeigt, dass relativ wenige Frauen der POGO-Studie der Unter- und Mittelschicht und dafür mehr der Oberschicht angehören. Der Schicht-Index der NVS II wurden mit denselben Variablen und zusätzlich aus der beruflichen Stellung der Person gebildet. Der Vergleich der POGO-Daten mit dem Schichtindex der NVS II bestätigt die Vermutung, dass die POGO-Kohorte aus wenigen Frauen der Unter- und Mittelschicht und dafür aus verhältnismäßig vielen Frauen der Oberschicht besteht (7,7 %, 25,7 %, 66,6 % vs. 4,7 %, 35,4 %, 60,0 %) (NVS II, 2008c).

Der Anstieg in der Stillhäufigkeit und -dauer in der POGO-Kohorte kann einerseits durch einen generellen Anstieg des Stillens in Deutschland bedingt sein, der anhand der KiGGS-

Daten über die Jahre 1986-2005 gezeigt wurde. Andererseits kann auch der hohe sozioökonomische Status der POGO-Mütter einen Einfluss auf das Stillverhalten haben.

Wie bereits Lange et al. (2007a) zeigen konnten, stillen Mütter mit einem höheren Schichtindex häufiger. Die Bereitschaft an einer Studie teilzunehmen ist vermutlich bei Frauen mit einem höheren Schichtindex höher, als bei Frauen mit einem niedrigeren Schichtindex. Bei der Unterteilung der POGO-Mütter nach Schichtindex und T2D-Risikogruppen konnten weniger Mütter der Hochrisikogruppe der Oberschicht zugeordnet werden, als bei der Niedrigrisikogruppe. Diese Beobachtungen deckten sich mit der Literatur (Lampert et al., 2013, Agardh et al., 2011).

Bis zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung, der im Median bei 5,5 Jahren nach der GDM-Geburt lag, entwickelten nur 7,8 % einen T2D und 37,3 % eine AGT. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien ist aufgrund der einmaligen Nachuntersuchung zu unterschiedlichen Zeitpunkten eher schwierig. Dennoch sollen in dieser Arbeit mögliche Unterschiede zu anderen Studien sowie deren Gründe diskutiert werden.

Tendenziell scheint das Vorkommen von T2D und AGT in dieser Kohorte geringer zu sein als in anderen Studien (Löbner et al., 2006, Lauenborg et al., 2004, Ziegler et al., 2012). Die Ursachen für eine niedrigere Prävalenz von T2D könnte in dem hohen sozioökonomischen Status und der damit in Zusammenhang stehenden höheren Stillhäufigkeit, aber auch in weiteren Lebensstilfaktoren, wie der Ernährung zu finden sein. Die Faktoren Stillen und Ernährung wurden in den Projekten 4 und 5 untersucht und werden im Anschluss näher diskutiert.

Auffällig bei den Kindern der POGO-Kohorte war der Faktor LGA, der eine bekannte Komplikation des GDM darstellt (Crume et al., 2011). In der POGO-Kohorte kamen nur 13,3 % der Kinder LGA zur Welt. Damit liegen die Werte weit unter denen der prospektiven deutschen GDM-Studie mit 31,4 %. Dagegen deckten sie sich nahezu mit den Daten der bayerischen perinatalen Präventionsstudie für Übergewicht mit 10,8 % (Nehring et al., 2013). Die Daten der POGO-Studie liegen damit nur leicht über dem prozentualen Anteil von LGA-Kindern bei nicht-diabetischen Müttern (8,1 %; Nehring et al. (2013)). Möglich ist, dass das niedrige Vorkommen von Kindern mit LGA in dieser GDM-Kohorte einer erfolgreichen Therapie während der Schwangerschaft zugeschrieben werden kann (Gillman et al., 2010).

Keine signifikanten Unterschiede zeigten dagegen POGO-Kinder zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung beim BMI und der Summe der Hautfaldendicke unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht im Vergleich zu den GDM-Referenzdaten des KiGGS (Stolzenberg et al., 2007, Neuhauser et al., 2011). Allerdings wiesen bei der Auftrennung in Vorschul- und

Schulalter die POGO Schulkinder einen signifikant höheren BMI-SDS auf. Somit entspricht die Gewichtsentwicklung in der POGO-Kohorte im Vorschulalter den GDM-Daten des KiGGS und liegt im Schulalter signifikant höher. Diese Ergebnisse decken sich mit Untersuchungen von Boerschmann et al. (2010). Sie zeigten, dass Kinder die einem GDM ausgesetzt waren, im Alter von zwei Jahren kaum, aber mit zunehmendem Alter häufiger übergewichtig waren, als Kinder von nicht-diabetischen Müttern.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die POGO-Kohorte erfolgreich implementiert werden konnte. Zwar ist dieses Kollektiv hinsichtlich des mütterlichen BMI sowie bezüglich der kindlichen Gewichtsentwicklung repräsentativ für eine GDM-Kohorte, dennoch ist zu beachten, dass sich die Mütter in ihrem Stillverhalten und mit ihrem sozioökonomischen Schichtindex von anderen GDM-Kohorten unterscheiden. Durch die Etablierung dieser Studie ist nicht nur die Untersuchung von neuen Forschungsansätzen, sondern auch die Erhebung von Lebensstilfaktoren wie Ernährung, Aktivität und auch psychosoziale Faktoren ermöglicht worden. Mit dieser Studie wurden neue Wege geschaffen, pathogenetische Mechanismen des T2D bzw. Adipositas zu erforschen. Gleichzeitig können dadurch Mütter und Kinder mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko frühzeitig identifiziert werden um ihnen präventive Maßnahmen zukommen zu lassen.

5.4 Ernährung zum Zeitpunkt der Nachuntersuchung als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko der Frauen mit vorangegangenem GDM

Es ist unumstritten, dass Umweltfaktoren eine große Rolle bei der Entstehung von T2D pp spielen. Allerdings ist bisher unklar, inwieweit die Ernährung bei Frauen mit GDM das Risiko, postpartal einen T2D zu entwickeln, beeinflusst. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher untersucht, ob sich Frauen mit GDM entsprechend der von Fachgesellschaften formulierten Empfehlungen ernähren und sich in ihrem Ernährungsverhalten von einem Normkollektiv, bestehend aus der NVS II, unterscheiden. Weiterhin wurde der Frage nachgegangen, ob sich Mütter mit und ohne erhöhtes postpartales T2D-Risiko unterschiedlich ernähren. Bislang ist auch nicht geklärt, welche Rolle dabei der sozioökonomische Status der Mutter spielt.

Die Ernährungsanalysen der POGO-Mütter mit vorangegangenem GDM zeigten, dass die Nährstoffzufuhr der Mütter nicht nur von formulierten Empfehlungen der Fachgesellschaften, sondern auch von den Nährstoffzufuhrmengen eines Normkollektives signifikant abwichen. Eine Ausnahme stellte dabei die Gesamtenergieaufnahme dar. Unterteilt nach den zwei

postpartalen T2D-Risikogruppen lagen signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen in der Makronährstoffaufnahme aber nicht in der Mikronährstoffaufnahme vor. Der soziökonomische Schichtindex zeigte in diesem Kollektiv keinen Einfluss auf das mütterliche Ernährungsverhalten.

Die DRW geben eine Zufuhrgrenze für Nahrungsfette von 30 % der Gesamtenergieaufnahme vor, da diese in Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms stehen. Die POGO-Mütter nahmen mehr Fett auf als empfohlen und auch als die Frauen der NVS II (% DRW im Median: 131,7, % NVS II im Median: 113,1). Nach Unterteilung der POGO-Mütter in T2D-Risikogruppen zeigte sich, dass die Hochrisikogruppe signifikant mehr Fett zu sich nahm als die Niedrigrisikogruppe (EN % im Median: 40,1 vs. 37,6). Vessby et al. (2001) vermuten, dass nur eine Gesamtfettaufnahme von mehr als 35-40 % der Gesamtenergieaufnahme ein Risiko für die Entwicklung eines T2D darstellen kann. Dies entspricht auch der Gesamtfettaufnahme der POGO-Mütter.

Die Zufuhr von Kohlenhydraten soll laut der D-A-CH mit 57,5 % den größten Anteil an der prozentualen Energiezufuhr einnehmen und wurde signifikant bei den POGO-Müttern unterschritten (Median der DRW: 79,2 %). Auch im Vergleich zu den Frauen der NVS II wiesen die POGO-Mütter eine signifikant geringere Kohlenhydratzufuhr auf (% NVS II im Median: 92,0 % und 87,3 %; $p < 0,0022$). Nach Unterteilung der POGO-Frauen in zwei T2D-Risikogruppen lag bei den Frauen der Hochrisikogruppe im Gegensatz zu der Niedrigrisikogruppe eine signifikant niedrigere Kohlenhydrataufnahme vor.

Im Gegensatz dazu war im Vergleich zu den NVS II-Teilnehmerinnen die Proteinaufnahme der POGO-Mütter signifikant höher (% DRW im Median: 144,2). Einzelne Nahrungsproteine sind für den humanen Organismus unentbehrlich. Daher ist eine ausreichende Proteinzufuhr von etwa 12,5 % der Gesamtenergie pro Tag, um ein Gleichgewicht in der Energieaufnahme zu halten. Es wurde eine signifikant höhere Proteinaufnahme bei den Frauen der Hochrisikogruppe gefunden. Jedoch war dieser Effekt nur unter Betrachtung des prozentualen Anteils der Proteinaufnahme an der Gesamtenergieaufnahme und nicht nach Korrektur für die Gesamtenergieaufnahme signifikant. Die Höhe einer optimalen Proteinaufnahme wird kontrovers diskutiert. Einerseits hat eine proteinreiche Ernährung durch die Zunahme des Sättigungsgefühls und des Energieverbrauchs positive Effekte auf die Gewichtsreduktion. Andererseits scheint sie nachteilige Effekte durch die Zunahme der Glukoneogenese und Insulinresistenz mit sich zu bringen (Bertenshaw et al., 2008, Chevalier et al., 2006, Krebs et al., 2002). In zwei großen Kohortenstudien konnte verdeutlicht werden, dass eine hohe Proteinaufnahme in Zusammenhang mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko steht.

Allerdings scheint nicht nur die Proteinquantität sondern auch die Qualität eine Rolle zu spielen (Ericson et al., 2013, Sluijs et al., 2010a). Hierbei ist zu berücksichtigen, dass es sich bei den untersuchten Kohorten nicht speziell um Frauen mit GDM gehandelt hat.

In der EPIC-Potsdam Studie konnte beobachtet werden, dass das Ersetzen von 5 % der Energieaufnahme aus Protein durch Kohlenhydrate einen T2D reduzierender Effekt hatte (Schulze et al., 2008).

Die Erkenntnisse zu den Makronährstoffen spiegeln im Großen und Ganzen unsere Ergebnisse wider. Die Empfehlungen zur Aufnahme von Kohlenhydraten um ein postpartales T2D-Risiko möglichst gering zu halten, sind hinsichtlich der Quantität und Qualität sehr umstritten (McClenaghan, 2005, Sluijs et al., 2010b).

Auf der Ebene der Mikronährstoffe sind bei dem Vergleich zu den Referenzwerten, wie auch zu einem Normalkollektiv besonders Vitamin D, Vitamin K und Niacin aufgefallen. Eine nicht adäquate Aufnahme dieser Vitamine wurde bereits in der Literatur mit einem T2D-Risiko, jedoch nicht speziell nach einem GDM, in Verbindung gebracht. Vitamin D lag mit etwa nur 10 % (Median) nicht nur signifikant unterhalb der empfohlenen DRW, sondern auch signifikant unter der medianen Aufnahme der NVS II-Teilnehmerinnen (72,7 % der NVS II Aufnahme). In der Literatur wird bereits ein Zusammenhang zwischen niedrigen Vitamin D-Spiegeln im Serum und dem Risiko, an T2D zu erkranken, beschrieben (Grineva et al., 2013). Welche Mechanismen für diesen Zusammenhang verantwortlich sind, ist jedoch nicht eindeutig geklärt (Takiishi et al., 2010). Es wird diskutiert, dass Vitamin D eine entscheidende Rolle in der Förderung der β -Zellfunktion wie auch in der Insulinsensitivität einnimmt. Thorand et al. (2011) zeigten, dass der umgekehrt proportionale Zusammenhang zwischen Vitamin D-Spiegeln im Serum und dem Auftreten eines T2D teilweise durch die unterschwelligen Entzündungsreaktionen erklärt werden könnte (Ford et al., 2005, Scragg et al., 2004). Eine niedrige Zufuhr von Vitamin D über die Nahrung muss nicht mit einem Vitamin D Mangel im Serum einhergehen, da der Körper durch Sonneneinstrahlung selber Vitamin D produzieren kann. Nur etwa 20 % unseres Vitamin D Bedarfs wird durch die Nahrung gedeckt. Dennoch ist eine adäquate Zufuhr von Vitamin D über die Nahrung sehr wichtig, um einer möglichen Entwicklung von T2D aufgrund von zu geringen Vitamin D Spiegeln im Serum entgegenwirken zu können (Takiishi et al., 2010).

Im Gegensatz zur Vitamin D-Aufnahme war die Zufuhr von Vitamin K fast viermal so hoch wie die empfohlenen DRW. Ein Vergleich zu den Zufuhrmengen der NVS II war nicht möglich, da dieses Vitamin nicht in deren Analysen eingeschlossen wurde. Vitamin K ist in die Blutgerinnung und in den Knochenstoffwechsel involviert und nimmt eine regulierende

Aufgabe im Zellwachstum ein. Insgesamt scheinen hohe Zufuhrmengen an Vitamin K ungefährlich, wenn nicht sogar vor T2D schützend zu sein. Denn ein Insulinsensitivitätssteigernder-Effekt konnte bei einer hohen Aufnahme in einer Supplementationsstudie gezeigt werden (Choi et al., 2011, DGE et al., 2012).

Bei den wasserlöslichen Vitaminen überschritt Niacin mit einer etwa dreifachen Zufuhrmenge signifikant die DRW und lag geringfügig über der Aufnahme der NVS II-Teilnehmerinnen (37,5g vs. 27,8g). Niacin ist ein Vitamin aus dem B-Komplex und bildet einen wichtigen Baustein verschiedener Coenzyme (NAD, NADP). Es ist in dieser Form von zentraler Bedeutung für die Verstoffwechslung von Eiweißen, Fetten und vor allem Kohlenhydraten. Eine hohe Aufnahme von Niacin wird kontrovers diskutiert. Einerseits wird Niacin eine Fett- und Cholesterinsenkende Wirkung im Blut zugeschrieben (Lavigne und Karas, 2013). Dies ist positiv zu bewerten, da die Fett- und Cholesterinwerte häufig bei Frauen mit gesteigertem postpartalen T2D-Risiko erhöht sind. Andererseits wird vermutet, dass eine hohe Niacin Aufnahme mit einer Glukoseintoleranz und Insulinresistenz im Zusammenhang steht (Phan et al., 2013, Zhou et al., 2010). Zusammenfassend sollten die DRW für Niacin nicht überschritten werden, um mögliche negative Auswirkungen von Niacin auf die Entwicklung von T2D pp zu vermeiden.

Die für die POGO-Studie gewählte Methode, der FFQ 85, ist eine Erfassungsmethode, die viele Vor- aber auch Nachteile mit sich bringt. Eine generelle Schwäche besteht bei Food Frequency Questionnaires, wie bei allen retrospektiven Erhebungsmethoden im Erinnerungsvermögen der Probanden. Die Kombination von absichtlichen und unabsichtlichen Fehlschätzungen von Verzehrshäufigkeit und Portionsgröße kann zu Underreporting (Falschangabe: zu gering) führen (Brunner et al., 2001). Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass nicht nur die Methode selbst, sondern auch weitere Faktoren zu einer Fehleinschätzung in der Nährstoffaufnahme führen. Durch die steigende Prävalenz von Übergewicht und Adipositas sowie durch die wachsende Diskussion über gesunde Lebensmittel und Ernährung in den Medien kommt es gleichzeitig zu einem Überschätzen des Verzehrs von gesunden geltenden Lebensmitteln wie auch zu einem Unterschätzen des Verzehrs ungesunder Lebensmittel (Bedard et al., 2004). Ein großer Vorteil dieser Methode ist die geringe Belastung des Befragten und dadurch die relativ hohe Compliance. Der Fragebogen ist einfach zu beantworten und kann daher selbst von den Probanden ausgefüllt werden (Frisch et al., 2010). Um typische Ernährungsmuster von Risikogruppen darstellen zu können, sind spezielle Erfassungsmethoden notwendig. Diese müssen geeignet sein, das Ernährungsverhalten einer GDM-Kohorte ausreichend abzubilden. Die durch uns verwendete

Ernährungserhebungsmethode wurde bereits in mehreren Pilotstudien, unter anderem auch an einer Kohorte mit 1500 Diabetikern validiert.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass der FFQ 85 ein etabliertes und geeignetes Instrument darstellt, um bei einer Diabetes-Kohorte das Ernährungsverhalten zusammen mit Trends in der Nahrungsaufnahme identifizieren zu können (Toeller et al., 2010, Tiepolt, 2002).

Die Ernährungsanalysen dieser Arbeit haben gezeigt, dass sich dieses POGO-GDM-Kollektiv in seiner Nährstoffaufnahme sowohl von den empfohlenen Referenzwerten wie auch von einem Normkollektiv unterscheidet. Neben der Aufnahme von Vitamin D, Vitamin K und Niacin scheint vor allem das Verhältnis der Makronährstoffe im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von T2D pp zu stehen. Dagegen konnte in dieser Kohorte kein Einfluss hinsichtlich des sozioökonomischen Schichtindex gesehen werden.

Zusammenfassend lassen die Ergebnisse dieser Untersuchungen vermuten, dass ein hohes postpartales T2D-Risiko durch die Ernährung getriggert wird. Dabei spielen nicht nur einzelne Ernährungsfaktoren hinsichtlich der Entwicklung von T2D pp eine Rolle, sondern vermutlich auch Kombinationen verschiedener Nahrungsmittel und Einnahmemengen. Weiterführende Analysen sind geplant, um mit Hilfe von Faktoren- und Clusteranalysen die Ernährung in dieser GDM-Risikogruppe nicht nur auf Nährstoffebene, sondern auch hinsichtlich Lebensmittelgruppen und Ernährungsmustern zu analysieren

5.5 Darm-Mikrobiom als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Müttern mit vorangegangenem GDM und auf die Entstehung von Übergewicht bei ihren Kindern

Neueste systembiologische Forschungsansätze sehen das komplexe Wechselspiel zwischen Mikroben und dem Körper als einen entscheidenden Faktor, welcher in Zusammenhang mit der Pathogenese von chronischen Krankheiten wie auch Diabetes gebracht wird. Studien weisen darauf hin, dass das Darm-Mikrobiom einen Einfluss auf den Energiehaushalt und Metabolismus hat, weshalb es auch in der Pathogenese eines T2D pp bei Müttern mit vorangegangenem GDM und der Entwicklung von Übergewicht bei deren Kindern eine Rolle spielen könnte (Backhed et al., 2004, Ley et al., 2006).

Mit Hilfe von 30 Mutter-Kind-Paaren des neu initiierten POGO-Kollektivs wurde die Bedeutung des Darm-Mikrobioms für die gesundheitliche Entwicklung von Mutter und Kind nach einem GDM untersucht. Im Rahmen dieser Arbeit konnte die Methode der 454-

Pyrosequenzierung des humanen Darm-Mikrobioms erfolgreich implementiert werden. Die Analysen haben gezeigt, dass der BMI der Mutter einen Einfluss auf die bakterielle Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms bei Müttern nach einem GDM hat. Unabhängig vom Alter der Kinder waren sich gepaarte Mutter-Kind-Paare in ihrer bakteriellen Zusammensetzung ihres Darm-Mikrobioms signifikant ähnlicher als ungepaarte Mutter-Kind-Paare. Dieser Effekt lag für verschiedene taxonomische Ebenen von Bakterien des Darm-Mikrobioms vor. Kinder die einem GDM und Adipositas in utero ausgesetzt waren unterschieden sich nicht signifikant von Kindern die einem GDM und keiner Adipositas ausgesetzt waren. Weiterhin konnte in diesem Kollektiv kein Einfluss des T2D-Risikos der Mutter auf das kindliche Darm-Mikrobiom gesehen werden.

Mehrere Studien haben bisher postuliert, dass die Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms und dessen metabolische Effizienz vermutlich für eine Prädisposition für T2D mitverantwortlich ist (Zhang et al., 2013, Larsen et al., 2010, Cani et al., 2007). Allerdings wurde bei diesen Studien vorrangig der Zusammenhang von Übergewicht mit der bakteriellen Darmbesiedlung untersucht und Diabetes nur als eine Folge von Übergewicht betrachtet. Bisher gab es keine Studie, die sich speziell mit der Entstehung von Diabetes nach einem GDM und der Rolle des Darm-Mikrobioms beschäftigt hat.

Wie bereits anhand der prospektiven deutschen GDM-Studie gezeigt werden konnte, ist Übergewicht ein Faktor, der eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Diabetes nach einem GDM spielt (Löbner et al., 2006, Ziegler et al., 2012). Bisher wies eine Vielzahl von Studien darauf hin, dass die Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms im Zusammenhang mit dem Gewichtsstatus steht (Turnbaugh et al., 2006, Ley et al., 2006). Ley et al. (2006) haben berichtet, dass im Faeces der Adipositas-Gruppe der Anteil an Bacteroidetes signifikant geringer ($p < 0,001$) und zugleich mit einer höheren Häufigkeit an Firmicutes assoziiert war ($p = 0,002$). Turnbaugh et al. (2009) charakterisierten in einer Studie mikrobielle Gemeinschaften im Darm-Mikrobiom von weiblichen eineiigen und zweieiigen Zwillingen im Alter von 25 bis 32 Jahren. In dieser Studie konnten bei adipösen Frauen ebenso ein signifikant niedrigerer Anteil an Bacteroidetes, aber keine Unterschiede bei den Firmicutes im Gegensatz zu den nicht-adipösen Frauen gefunden werden.

Die Befunde dieser Studien stimmen allgemein mit den Ergebnissen aus der vorliegenden Untersuchung überein. Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind in der Phyla Firmicutes nicht zu sehen. Jedoch konnte in der Ordnungs- bis zur Gattungs-Ebene gezeigt werden, dass Frauen mit einem BMI $\times 30 \text{ kg/m}^2$ eine signifikant höhere Abundanz an Lactobacillales, Lactobacillaceae und Lactobacillus hatten als Frauen mit einem niedrigeren

BMI. Dagegen wiesen im Phylum Verrucomicrobia, Klasse Verrucomicrobiae und Ordnung Verrucomicrobiales adipöse Frauen einen geringeren relativen Anteil dieser Bakterien auf als nicht-adipöse Frauen.

Einer Verlagerung des Verhältnisses von Bacteroidetes zu Firmicutes bei adipösen Patienten wird in der Literatur einer Funktionsveränderung zugeschrieben (Ley et al., 2006). Diese Veränderung in der Zusammensetzung des Darm-Mikrobioms ist mit einer effizienteren Energiegewinnung aus der aufgenommenen Nahrung assoziiert. Zusätzlich gewonnene Kalorien werden in Fett umgewandelt und im Fettgewebe gespeichert. Weiterhin wird eine negative Korrelation zwischen *Akkermansia muciniphilia* und dem BMI wie auch der Fettmasse und anderen Stoffwechselkrankheiten beschrieben. Diese wurden bereits im Zusammenhang mit Adipositas in der Literatur diskutiert (Everard et al., 2013, Santacruz et al., 2010, Karlsson et al., 2012). Dieser Trend konnte hinsichtlich des Zusammenhangs des BMI mit dem Vorkommen an *Akkermansia* auch in dieser Kohorte bestätigt werden.

Das Muzin-reduzierende Bakterium *Akkermansia muciniphilia* gehört zum Phylum Verrucomicrobia und nimmt vermutlich eine Schlüsselrolle in der Aufrechterhaltung der Muzinschicht und in der Reduzierung von Entzündungsprozessen ein. Es kann dadurch vor Übergewicht und T2D schützen (Everard et al., 2013, Collado et al., 2007, Cani et al., 2007).

In der vorliegenden Arbeit konnten im Darm-Mikrobiom zwischen Frauen mit hohem und niedrigem postpartalen T2D-Risiko keinerlei signifikante Unterschiede gefunden werden. Dennoch war ein ähnlicher Trend, der bisher in der Literatur für die Entwicklung eines T2D gezeigt wurde, auch in dieser Kohorte hinsichtlich des postpartalen T2D-Risikos zu sehen.

In einer chinesischen Studie wurden 121 Teilnehmer in die drei Gruppen NGT, Prä-T2D und T2D unterteilt. In dieser Studie wurde Verrucomicrobia als potentieller Marker für T2D identifiziert (Zhang et al., 2013). Verrucomicrobia trat vor allem in der Gruppe der Prä-T2D seltener auf als in der Gruppe der NGT. Weiterhin fanden die Wissenschaftler heraus, dass auch die Klasse Verrucomicrobiae und die Gattung *Akkermansia muciniphilia* signifikant häufiger in der NGT und seltener in der Prä-T2D und in der T2D-Gruppe auftraten. Auch wenn die Unterschiede in der vorliegenden Arbeit nicht signifikant waren, hatten Mütter der Niedrigrisikogruppe im Vergleich zu der anderen Gruppe eine etwa doppelt so hohe Abundanz an Verrucomicrobia, Verrucomicrobiae und *Akkermansia* (Phylum, Klasse und Gattung: 2,30 % vs. 1,16 %).

Zhang et al. (2013) zeigten, dass die relative Abundanz von *Bacteroides* bei bereits diagnostizierten Diabetikern im Gegensatz zu Probanden mit einer normalen Glukosetoleranz, nur etwa halb so hoch war. Bei den POGO-Frauen der T2D-Risikogruppe konnte ein

ähnlicher Trend beobachtet werden.

Dem Darm-Mikrobiom wird hinsichtlich des Vorkommens an Akkermansia und Bacteroides eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung von Insulinresistenz und T2D zugeschrieben. Diese beruht auf einem endotoxin-induzierten Entzündungsprozess (Cani et al., 2007, Zhang et al., 2013). Die beiden gram-negativen Bakterien besitzen einen hohen Anteil an Lipopolysacchariden als Hauptbestandteil in ihrer äußeren Membran. Die stark proinflammatorisch wirkenden Moleküle werden im Darm produziert und töten dabei Gram-positive Bakterien, wie Firmicutes ab.

Wenige Studien haben sich bisher mit dem Darm-Mikrobiom bei Mutter-Kind-Paaren beschäftigt und speziell Untersuchungen, die Zusammenhänge in einem zu unserer Kohorte vergleichbaren Risikokollektiv hinsichtlich der Faktoren Diabetes, BMI wie auch Alter analysiert haben, fehlen vollständig.

In einer aktuellen Publikation von Avershina et al. (2014) wurde das Darm-Mikrobiom von fünf Müttern mit ihren Kindern von Geburt bis zum Alter von zwei Jahren verfolgt. Zum Zeitpunkt der Geburt waren sich die Kinder untereinander in ihrem Darm-Mikrobiom ähnlicher als zu ihren Müttern. Im Alter von vier bis zwölf Monaten hatte nur ein Kind mehr Ähnlichkeit zu seiner Mutter als zu allen anderen und im Alter von zwei Jahren waren sich drei von fünf Mutter-Kind-Paaren ähnlicher als die nicht Mutter-Kind-Paare. Die Kinder der Untersuchung von Avershina et al. (2014) sind jünger als die der POGO-Kohorte. Dennoch decken sich die Ergebnisse der Mutter-Kind-Paare im Alter von zwei Jahren im Allgemeinen mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit.

Die Beobachtungen bei verwandten Probanden in der bereits beschriebenen Zwillingsstudie von Turnbaugh et al. (2009) deckten sich mit den Ergebnissen der Mutter-Kind-Paare der vorliegenden Arbeit. Verwandte Probanden zeigten eine größere Ähnlichkeit im Darm-Mikrobiom als nicht verwandte Probanden. In dieser Hinsicht gab es keine Unterschiede zwischen eineiigen und zweieiigen Zwillingspaaren.

Die Ergebnisse der Studien postulieren, dass sich Mutter-Kind-Paare von Geburt an bis hin ins Erwachsenenalter in ihrem Darm-Mikrobiom ähnlicher werden. In der vorliegenden Untersuchung konnte jedoch bei Kindern, im Alter von drei bis acht Jahren, kein altersabhängiger Effekt gefunden werden.

Bisher existieren zu dieser Studie keine vergleichbaren Daten, die den Einfluss von GDM sowie den Einfluss des mütterlichen BMIs auf das Darm-Mikrobiom bei Kindern im Alter von drei bis acht Jahren untersucht haben. Eine Studie hat den Effekt des mütterlichen BMI auf das Mikrobiom bei Kindern bis zu einem Alter von 6 Monaten untersucht. Collado et al.

(2010) zeigten, dass ein Zusammenhang zwischen dem BMI der Mutter und einer Veränderung im Darm-Mikrobiom bei Kindern bis zu einem Alter von 6 Monaten zu sehen war.

In der von Turnbaugh et al. (2009) bereits beschriebenen Studie hatten adipöse Zwillinge im Gegensatz zu normalgewichtigen Zwillingen ein höheres Vorkommen von Actinobacteria und ein geringeres Vorkommen von Bacteroidetes. Weiterhin zeigten Übergewichtige eine geringere bakterielle Diversität als Normalgewichtige. Im Allgemeinen konnten diese Beobachtungen auch beim Vergleich der Kinder adipöser Mütter und nicht-adipöser Mütter der POGO-Kohorte gesehen werden. Die Daten deuten darauf hin, dass sich Kinder, die einem GDM und Adipositas ausgesetzt waren von Kindern, die einem GDM aber keiner mütterlichen Adipositas ausgesetzt waren, in ihrem Darm-Mikrobiom unterscheiden.

Die primäre Limitation dieser Pilotstudie ist die geringe Fallzahl. Die Größe der Kohorte wie auch die Verteilung innerhalb der Risikogruppen könnte für die geringe Anzahl an signifikanten Beobachtungen hinsichtlich der diskutierten Einflussfaktoren ursächlich sein.

Nur drei Frauen hatten zum Zeitpunkt der Probenentnahme einen T2D und acht einen IGT oder IFG entwickelt.

Es war lediglich eine Gruppierung basierend auf dem berechneten postpartalen T2D-Risiko, aber nicht anhand der medizinischen Befunde, möglich. Dies ist durch das Studiendesign mit einem einmaligen Untersuchungszeitpunkt und durch die geringe Anzahl an Frauen mit diagnostiziertem Diabetes bedingt. Auch die Verteilung der adipösen und nicht-adipösen Frauen war mit 8 vs. 22 nicht homogen. Dies kann zu statistischen Artefakten geführt haben.

Bereits in der Literatur diskutierte Einflussfaktoren, wie das Alter der Kinder und die Einnahme von Antibiotika wurden bei der Probenauswahl berücksichtigt. Nachdem sich das kindliche Darm-Mikrobiom vermutlich am stärksten bis zum dritten Lebensjahr verändert, wurden für die Analysen nur Proben von Kindern ab einem Alter von drei Jahren ausgewählt (Yatsunenko et al., 2012, Palmer et al., 2007).

Um den diskutierten Einfluss einer Antibiotikaeinnahme auf das Darm-Mikrobiom in dieser Untersuchung möglichst gering zu halten, wurden nur Proben analysiert, bei denen die Probanden mindestens 6 Monate zuvor kein Antibiotikum eingenommen hatten. Bis sich nach einer Antibiotikaeinnahme das ursprüngliche Mikrobiom wieder regeneriert hat dauert es zwischen ein und sechs Monate (Dethlefsen et al., 2008). Jedoch ist nach den Ergebnissen einer neueren Studien unklar, ob das Darm-Mikrobiom nach einer Antibiotikaeinnahme wieder vollständig in seine anfängliche Zusammensetzung zurückkehrt (Dethlefsen und Relman, 2011).

Der Geburtsmodus wird als ein weiterer Einflussfaktor auf das Darm-Mikrobiom diskutiert. Er zeigte in dieser Kohorte keinen Einfluss auf die bakterielle Diversität und Abundanz des Darm-Mikrobioms. Dies ist vermutlich auch hier dem Alter der Kinder (> 3 Jahre) und dem damit verbundenen, relativ stabilen, Mikrobiom zuzuschreiben. Ebenso konnten bei den POGO-Kindern keine geschlechtsspezifischen Einflüsse auf das Darm-Mikrobiom festgestellt werden. Wohingegen Mueller et al. (2006) in einer europäischen Querschnittsstudie bei 230 Erwachsenen einen Unterschied zwischen den Geschlechtern, allerdings nur in einer Bakteriengruppe (*Bacteroides-Prevotella*) beobachtete.

Die Transportdauer zeigte in den vorliegenden Analysen keine Auswirkungen auf Veränderungen im Darm-Mikrobiom. Um den in der Literatur diskutierten Einfluss des Transportes auf das Darm-Mikrobiom möglichst gering zu halten, werden zukünftig die Proben gekühlt transportiert sowie weiterhin so schnell wie möglich weiterverarbeitet und bei -80° Grad gelagert.

Für eine qualitativ hochwertige Analyse des Darm-Mikrobioms spielt neben der Probenauswahl auch die Probenaufbereitung, speziell die DNA-Isolierung aus Faeces-Proben, eine entscheidende Rolle (Yuan et al., 2012). Mit dem PowerFecal DNA Isolation Kit wurde eine geeignete Methode gefunden, die eine möglichst hohe DNA-Ausbeute und gleichzeitig eine gute Qualität der genomischen DNA ermöglichte.

Zusammenfassend ist mit dieser Arbeit trotz technischer und methodischer Herausforderungen eine erfolgreiche Implementierung der Pyrosequenzierung des humanen Darm-Mikrobioms gelungen. Der maternale BMI scheint in dieser Analyse den stärksten Einfluss auf das Darm-Mikrobiom zu haben. Potentielle Mechanismen könnten hierfür unter anderem die Veränderung in der Verstoffwechslungskapazität aufgenommener Nahrung wie auch die Förderung von proinflammatorischen Prozessen sein. Auch wenn sich die 30 Mutter-Kind-Paare ähnlicher waren als nicht-verwandte-Paare, konnten bei den Kindern nur Tendenzen aber keine signifikanten Zusammenhänge mit dem maternalen BMI und auch nicht mit dem postpartalen T2D-Risiko der Mutter beobachtet werden.

Um diese Ergebnisse und vor allem auch die beobachteten Trends zu bestätigen, ist eine weitere Untersuchung in einer größeren, möglichst homogenen Gruppe mit neuen, noch komplexeren bioinformatischen Analyseverfahren angestrebt.

6. Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die Prävalenz für GDM steigt stetig und bringt schwerwiegende Langzeitfolgen für Mutter und Kind mit sich. Mehr als die Hälfte der Frauen mit GDM entwickeln innerhalb von zehn Jahren nach Entbindung einen T2D und ihre Kinder haben ein erhöhtes Risiko für Übergewicht und folglich auch für T2D.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, Einflussfaktoren und Mechanismen auf die Entstehung von T2D bei Müttern nach einem GDM und auf die Entwicklung von Übergewicht bei ihren Nachkommen zu identifizieren. Für die Untersuchung dieser Fragestellungen wurden Daten der a) bereits etablierten prospektiven deutschen GDM-Studie sowie b) der im Rahmen dieser Arbeit initiierten POGO-Kohortenstudie und deren umfangreiche Biobanken herangezogen.

Projekt 1: Stillen als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

Mit Hilfe der prospektiven deutschen GDM-Studie war es erstmals möglich den Effekt des Stillens bei Frauen mit GDM auf die langfristige Entwicklung eines T2D pp über einen Zeitraum von fast 20 Jahren zu analysieren. In dieser Studienpopulation entwickelten 147 Frauen (48,3 %), abhängig von der Therapieform während der Schwangerschaft, ihrem BMI und dem Antikörperstatus, einen T2D pp. Mehr als 90 % der mit Insulin behandelten Frauen manifestierten einen T2D innerhalb von 15 Jahren. Dabei lag deren T2D-freie-Zeit im Median bei weniger als 2,5 Jahren. Insgesamt stillten 61,9 % der Mütter und davon 41,3 % mehr als drei Monate. Die Analysen haben gezeigt, dass Stillen das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit GDM langfristig um 40 % senkt und die Stilldauer invers mit dem T2D-Risiko assoziiert ist. In dieser Arbeit konnte erstmals beobachtet werden, dass Frauen mit einem BMI ≤ 30 kg/m², wie auch Frauen deren GDM nicht mit Insulin behandelt wurde, mehr von Stillen profitieren, als adipöse, insulinbehandelte Frauen. Zusammenfassend stellt Stillen einen schützenden Effekt und damit eine günstige Intervention bei Frauen mit erhöhtem postpartalen T2D-Risiko dar.

Projekt 2: Einfluss von T2D-Risikogenen auf die Gewichtsentwicklung bei Kindern von Müttern mit vorangegangenem GDM

Im zweiten Projekt war es das Ziel zu überprüfen, ob die T2D-assoziierten Gene *HHEX-IDE*, *CDKALI* und *SLC30A8* die Gewichtsentwicklung der Kinder von Müttern mit GDM beeinflussen. Dabei wurde auch die Rolle des mütterlichen BMIs untersucht. Die Analyse von 185 Kindern (Alter: 1 bis 10 Jahre) von Müttern mit GDM der prospektiven deutschen GDM-Studie zeigte einen BMI-reduzierenden Effekt des *HHEX-IDE* T2D-Risikoallels. Dagegen

konnte kein Zusammenhang mit den *CDKAL1* und *SLC30A8* Loci gefunden werden. Interessanterweise konnte der BMI reduzierende Effekt des *HHEX-IDE* Risikoallels nur bei Kindern von adipösen Müttern und bei Kindern in einem Alter von 1 bis 2,3 Jahre beobachtet werden. Dieser Effekt sank mit zunehmendem Alter der Kinder. Zwischen den untersuchten T2D-assoziierten Genen und den Geburtsgewichtszentilen konnte kein Einfluss gefunden werden. Zusammenfassend weisen die Ergebnisse auf einen Einfluss des *HHEX-IDE* Genotyps auf das frühe Wachstum der Kinder von Müttern mit GDM hin. Dieser Einfluss interagiert sowohl mit dem Alter der Kinder, als auch mit dem BMI der Mutter.

Projekt 3: Etablierung der POGO-Kohorte

Um neuen Forschungsansätzen mit Untersuchungen von Lebensstilfaktoren und Analysen des Darm-Mikrobioms nachgehen zu können, wurde die POGO-Kohorte erfolgreich implementiert. Es konnten bis zum Sommer 2013 122 Mütter und 133 Kinder, bei denen Daten zum GDM-Screening vorlagen, in die Studie eingeschlossen werden. Im Median wurde diese Kohorte 5,5 Jahre (IQR: 1,8-11,4 Jahre) nach der Index-Schwangerschaft (erste Schwangerschaft mit Daten zum GDM-Screening) nachuntersucht. Zu diesem Zeitpunkt hatten 8 % der Mütter einen T2D und 36 % der Mütter eine gestörte Glukosetoleranz entwickelt. Die Kohorte ist hinsichtlich des maternalen BMIs am Anfang der Schwangerschaft, dem prozentualen Anteil der Frauen die mit Insulin therapiert wurden, sowie hinsichtlich der Gewichtsentwicklung der Kinder repräsentativ für ein GDM-Kollektiv. Jedoch entsprechen die Mütter der POGO-Kohorte in ihrem Stillverhalten und in ihrem sozioökonomischen Schichtindex nicht einem typischen GDM-Kollektiv. Die meisten Frauen waren der Oberschicht zuzuordnen und nur wenige Frauen der Unter- oder Mittelschicht. Bis auf neun Mütter stillten alle Mütter dieser Kohorte. Ein Großteil stillte länger als drei Monate. Mit der erfolgreichen Etablierung dieser Studie wurden neue Möglichkeiten geschaffen, Mechanismen des T2D bzw. Adipositas zu erforschen.

Projekt 4: Ernährung als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Frauen mit vorangegangenem GDM

Der Einfluss der Ernährung auf das langfristige postpartale T2D-Risiko wurde bei 104 Frauen mit GDM des POGO-Kollektives untersucht. Die Frauen dieses GDM-Kollektives wichen in ihrer Nährstoffaufnahme von den empfohlenen D-A-CH Referenzwerten ab und unterschieden sich von den Zufuhrmengen eines Normalkollektives. Die Aufnahme von Protein und Fett war bei Frauen mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko höher, wohingegen bei Frauen mit einem niedrigen Risiko die Kohlenhydratzufuhr höher war.

Die in dieser Arbeit beobachtete inadäquate Zufuhr von Vitamin D, Vitamin K und Niacin bei Frauen mit einem erhöhten T2D-Risiko wurde bereits in der Literatur im Zusammenhang mit T2D diskutiert. Dagegen konnte in dieser GDM-Kohorte kein Einfluss des sozioökonomischen Schichtindex auf die Ernährung gefunden werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen zusammenfassend vermuten, dass ein hohes postpartales T2D-Risiko durch die Ernährung getriggert wird.

Projekt 5: Darm-Mikrobiom als Einflussfaktor auf das postpartale T2D-Risiko bei Müttern mit vorangegangenem GDM und auf die Entstehung von Übergewicht bei ihren Kindern

In dieser Arbeit wurde erfolgreich eine neue Sequenzierungsmethode (454-Pyrosequenzierung) in Kooperation mit Prof. Dr. Anton Hartmann implementiert. In einer Pilotstudie konnte die Bedeutung des Darm-Mikrobioms für die gesundheitliche Entwicklung von Müttern mit GDM und deren Kinder an 30 Mutter-Kind-Paaren der POGO-Studie untersucht werden.

Der mütterliche BMI, als ein wichtiger T2D-Risikofaktor, scheint auf das Darm-Mikrobiom der Mütter in diesem Kollektiv den stärksten Einfluss zu haben. Die beobachteten Unterschiede im Darm-Mikrobiom zwischen adipösen und nicht-adipösen Müttern resultieren vermutlich in einer Veränderung der Verstoffwechselungskapazität aufgenommener Nahrung und in der Förderung von proinflammatorischen Effekten.

Die Untersuchung von Mutter-Kind-Paaren ergab, dass sich unabhängig vom Alter der Kinder, gepaarte Mutter-Kind-Paare in ihrem Darm-Mikrobiom in verschiedenen taxonomischen Ebenen signifikant ähnlicher waren als ungepaarte Mutter-Kind-Paare. Bei den untersuchten Kindern konnten keine signifikanten Zusammenhänge mit dem maternalen BMI und auch nicht mit dem postpartalen T2D-Risiko der Mutter mit dem kindlichen Darm-Mikrobiom gefunden werden. Jedoch konnten die in der Literatur beschriebenen Beobachtungen hinsichtlich des maternalen BMI und dem Einfluss auf das kindliche Darm-Mikrobiom im allgemeinen auch in dieser GDM-Kohorte gesehen werden.

Um die Ergebnisse und auch die beobachteten Trends der erfolgreich implementierten Sequenzierung des Darm-Mikrobioms der Mutter-Kind-Paare zu bestätigen, ist eine weitere Untersuchung in einer größeren, möglichst homogenen Gruppe mit neuen, noch komplexeren bioinformatischen Analyseverfahren angestrebt.

Zusammenfassend hat diese Arbeit dazu beigetragen, Aufschluss über die Entstehung von T2D bei Müttern nach einem GDM und über die Entwicklung von Übergewicht bei ihren Kindern zu geben. Im Rahmen dieser Analysen konnte nicht nur gezeigt werden, dass Stillen

einen langfristigen schützenden Effekt auf das mütterliche T2D-Risiko pp hat, sondern auch, dass das Ernährungsverhalten vermutlich einen Trigger für T2D darstellt. Deshalb sollten Maßnahmen ergriffen werden, um das Stillverhalten und das Ernährungsverhalten von Müttern, insbesondere von Müttern mit GDM, zu verbessern. Stillen stellt eine einfache, günstige und natürliche Intervention bei Frauen mit einem erhöhten postpartalen T2D-Risiko dar.

Die Analysen zeigten neben einem genetischen Einfluss auf die kindliche Gewichtsentwicklung auch, dass das Darm-Mikrobiom vermutlich eine Rolle bei der gesundheitlichen Entwicklung von Mutter und Kind einnimmt. Weitere Untersuchungen sind - unter anderem in Kooperation mit einer finnischen Kohorte - geplant, um die bisher erhobenen Befunde an anderen GDM-Kohorten zu validieren bzw. um für neue Forschungsansätze die Fallzahlen zu erhöhen.

7. Literaturverzeichnis

- Abdi, H.** (2007) *Encyclopedia of Measurement and Statistics.*, Sage, Thousand Oaks.
- Aberg, A.E., Jonsson, E.K., Eskilsson, I., Landin-Olsson, M. & Frid, A.H.** (2002) Predictive factors of developing diabetes mellitus in women with gestational diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 81, 11-16.
- American Diabetes Association (ADA)** (2000) Type 2 diabetes in children and adolescents. American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 23, 381-389.
- American Diabetes Association (ADA)** (2003) Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 26 Suppl 1, S5-20.
- Agardh, E., Allebeck, P., Hallqvist, J., Moradi, T. & Sidorchuk, A.** (2011) Type 2 diabetes incidence and socio-economic position: a systematic review and meta-analysis. *Int J Epidemiol*, 40, 804-818.
- American Diabetes Association (ADA)** (2003) Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 26, s103-s105.
- Anderson, M.J.** (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, 26, 32-46.
- Andreasen, C.H. & Andersen, G.** (2009) Gene-environment interactions and obesity--further aspects of genomewide association studies. *Nutrition*, 25, 998-1003.
- Aqua** (2011) *Bundesauswertung zum Verfahrensjahr 2010. 16/1 Geburtshilfe*, Göttingen, Institut für angewandte Qualitätsförderung und Forschung im Gesundheitswesen.
- Arbeitsgemeinschaft für materno-fetale Medizin (AGMFM) der DGGG, Deutsche Gesellschaft für Perinatale Medizin** (2001) Diagnostik und Therapie des Gestationsdiabetes. *Frauenarzt*, 42, 891-899.
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D.R., Fernandes, G.R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J.M., et al.** (2011) Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473, 174-180.
- Avershina, E., Storro, O., Oien, T., Johnsen, R., Pope, P. & Rudi, K.** (2014) Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. *FEMS Microbiol Ecol*, 87, 280-290.
- Backhed, F., Manchester, J.K., Semenkovich, C.F. & Gordon, J.I.** (2007) Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 104, 979-984.
- Bajaj, M. & Defronzo, R.A.** (2003) Metabolic and molecular basis of insulin resistance. *J Nucl Cardiol*, 10, 311-323.
- BECKMANN COULTER, D.** (2012) Krefeld: BECKMANN COULTER Available: http://www.beckmancoulter.de/Life+Science/Molekularbiologie/DNA_RNA_Aufreinigung/AMPure+XP.html [Accessed 20.08 2013].
- Bedard, D., Shatenstein, B. & Nadon, S.** (2004) Underreporting of energy intake from a self-administered food-frequency questionnaire completed by adults in Montreal. *Public Health Nutr*, 7, 675-681.
- Bellamy, L., Casas, J.P., Hingorani, A.D. & Williams, D.** (2009) Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 373, 1773-1779.
- Ben-Haroush, A., Yogeve, Y. & Hod, M.** (2004) Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabet Med*, 21, 103-113.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y.** (1997) Multiple Hypotheses Testing with Weights. *Scandinavian Journal of Statistics*, 24, 407-418.

- Bertenshaw, E.J., Lluch, A. & Yeomans, M.R.** (2008) Satiating effects of protein but not carbohydrate consumed in a between-meal beverage context. *Physiol Behav*, 93, 427-436.
- Beyerlein, A., Lack, N. & von Kries, R.** (2010) Within-population average ranges compared with Institute of Medicine recommendations for gestational weight gain. *Obstet Gynecol*, 116, 1111-1118.
- Boerschmann, H., Pfluger, M., Henneberger, L., Ziegler, A.G. & Hummel, S.** (2010) Prevalence and predictors of overweight and insulin resistance in offspring of mothers with gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 33, 1845-1849.
- Bundesgeschäftsstelle Qualitätssicherung gGmbH (BQS)** (2007) *Qualität sichtbar machen - BQS-Qualitätsreport: Geburtshilfe*, Düsseldorf, Institut für Qualität und Patientensicherheit.
- Bray, J.R. & Curtis, J.T.** (1957) An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, 27, 325-349.
- Brosius, F.** 2011. *SPSS 19.*, Heidelberg, München, Landsberg, Frechen, Hamburg.
- Brunner, E., Stallone, D., Juneja, M., Bingham, S. & Marmot, M.** (2001) Dietary assessment in Whitehall II: comparison of 7 d diet diary and food-frequency questionnaire and validity against biomarkers. *Br J Nutr*, 86, 405-414.
- Buchanan, T.A., Xiang, A.H., Kjos, S.L., Trigo, E., Lee, W.P. & Peters, R.K.** (1999) Antepartum predictors of the development of type 2 diabetes in Latino women 11-26 months after pregnancies complicated by gestational diabetes. *Diabetes*, 48, 2430-2436.
- Buckley, B.S., Harreiter, J., Damm, P., Corcoy, R., Chico, A., Simmons, D., Vellinga, A., Dunne, F. & Group, D.C.I.** (2012) Gestational diabetes mellitus in Europe: prevalence, current screening practice and barriers to screening. A review. *Diabet Med*, 29, 844-854.
- Bühl, A.** 2006. *SPSS 14: Einführung in die moderne Datenanalyse.*, München, Pearson Studium.
- Burnol, A.F., Leturque, A., Ferre, P., Kande, J. & Girard, J.** (1986) Increased insulin sensitivity and responsiveness during lactation in rats. *Am J Physiol*, 251, E537-541.
- Butte, N.F., Hopkinson, J.M., Mehta, N., Moon, J.K. & Smith, E.O.** (1999) Adjustments in energy expenditure and substrate utilization during late pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr*, 69, 299-307.
- Buuren, S.v. & Groothuis-Oudshoorn, K.** (2011) mice: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *Journal of Statistical Software*, 45, 1-67.
- Cani, P.D., Amar, J., Iglesias, M.A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A.M., Fava, F., Tuohy, K.M., Chabo, C., et al.** (2007) Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56, 1761-1772.
- Cani, P.D. & Delzenne, N.M.** (2009) Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. *Curr Opin Pharmacol*, 9, 737-43.
- Carpenter, M.W. & Coustan, D.R.** (1982) Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 144, 768-773.
- Catalano, P.M.** (1994) Carbohydrate metabolism and gestational diabetes. *Clin Obstet Gynecol*, 37, 25-38.
- Catalano, P.M., Farrell, K., Thomas, A., Huston-Presley, L., Mencin, P., de Mouzon, S.H. & Amini, S.B.** (2009) Perinatal risk factors for childhood obesity and metabolic dysregulation. *Am J Clin Nutr*, 90, 1303-1313.
- Catalano, P.M., Vargo, K.M., Bernstein, I.M. & Amini, S.B.** (1991) Incidence and risk factors associated with abnormal pp glucose tolerance in women with gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol*, 165, 914-919.

- Chao, A.** (1984) Non-parametric estimation of the number of classes in a population. . *Scandinavian Journal of Statistics*, 11, 265-270.
- Chevalier, S., Burgess, S.C., Malloy, C.R., Gougeon, R., Marliss, E.B. & Morais, J.A.** (2006) The greater contribution of gluconeogenesis to glucose production in obesity is related to increased whole-body protein catabolism. *Diabetes*, 55, 675-681.
- Choi, H.J., Yu, J., Choi, H., An, J.H., Kim, S.W., Park, K.S., Jang, H.C., Kim, S.Y. & Shin, C.S.** (2011) Vitamin K2 supplementation improves insulin sensitivity via osteocalcin metabolism: a placebo-controlled trial. *Diabetes Care*, 34, e147.
- Collado, M.C., Derrien, M., Isolauri, E., de Vos, W.M. & Salminen, S.** (2007) Intestinal integrity and *Akkermansia muciniphila*, a mucin-degrading member of the intestinal microbiota present in infants, adults, and the elderly. *Appl Environ Microbiol*, 73, 7767-7770.
- Collado, M.C., Isolauri, E., Laitinen, K. & Salminen, S.** (2010) Effect of mother's weight on infant's microbiota acquisition, composition, and activity during early infancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. *Am J Clin Nutr*, 92, 1023-1030.
- Crepaldi, S.C., Carneiro, E.M. & Boschero, A.C.** (1997) Long-term effect of prolactin treatment on glucose-induced insulin secretion in cultured neonatal rat islets. *Horm Metab Res*, 29, 220-224.
- Crume, T.L., Ogden, L., Daniels, S., Hamman, R.F., Norris, J.M. & Dabelea, D.** (2011) The impact of in utero exposure to diabetes on childhood Body-Mass-Index growth trajectories: the EPOCH study. *J Pediatr*, 158, 941-946.
- Dabelea, D.** (2007) The predisposition to obesity and diabetes in offspring of diabetic mothers. *Diabetes Care*, 30 Suppl 2, S169-174.
- Dabelea, D., Snell-Bergeon, J.K., Hartsfield, C.L., Bischoff, K.J., Hamman, R.F. & McDuffie, R.S.** (2005) Increasing prevalence of gestational diabetes mellitus (GDM) over time and by birth cohort: Kaiser Permanente of Colorado GDM Screening Program. *Diabetes Care*, 28, 579-584.
- Damm, P.** (1998) Gestational diabetes mellitus and subsequent development of overt diabetes mellitus. *Dan Med Bull*, 45, 495-509.
- Danielzik, S., Langnase, K., Mast, M., Spethmann, C. & Muller, M.J.** (2002) Impact of parental BMI on the manifestation of overweight 5-7 year old children. *Eur J Nutr*, 41, 132-138.
- Deutsche Diabetesgesellschaft (DDG)** (2001) Arbeitsgemeinschaft für materno-fetale Medizin (AGMFM) der DGGG, Deutsche Gesellschaft für Perinatale Medizin: Diagnostik und Therapie des Gestationsdiabetes. *Frauenarzt*, 42, 891-899.
- DeFronzo, R.A.** (1988) Lilly lecture 1987. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes*, 37, 667-687.
- DeFronzo, R.A.** (2004) Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Med Clin North Am*, 88, 787-835.
- Denis, B., Bellefontaine, V., Marganne, M., Somasse, E. & Drielsma, P.** (2011) Type 2 diabetes mellitus prevalence and social inequalities for health. *Rev Med Brux*, 32, 10-13.
- Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M.L. & Relman, D.A.** (2008) The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol*, 6, e280.
- Dethlefsen, L. & Relman, D.A.** (2011) Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 108 Suppl 1, 4554-4561.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), Österreichische Gesellschaft für**

- Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährungsforschung (SGE) & Schweizerische Vereinigung für Ernährung (SVE)** (2012) *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr.*, Neustadt an der Weinstraße, Neuer Umschau Buchverlag.
- Diamant, M., Blaak, E.E. & de Vos, W.M.** (2011) Do nutrient-gut-microbiota interactions play a role in human obesity, insulin resistance and type 2 diabetes? *Obes Rev*, 12, 272-281.
- DiBaise, J.K., Zhang, H., Crowell, M.D., Krajmalnik-Brown, R., Decker, G.A. & Rittmann, B.E.** (2008) Gut microbiota and its possible relationship with obesity. *Mayo Clin Proc*, 83, 460-469.
- Dominguez-Bello, M.G., Costello, E.K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N. & Knight, R.** (2010) Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 107, 11971-11975.
- Eckburg, P.B., Bik, E.M., Bernstein, C.N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., Gill, S.R., Nelson, K.E. & Relman, D.A.** (2005) Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 308, 1635-1638.
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C. & Knight, R.** (2011) UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27, 2194-2200.
- Ericson, U., Sonestedt, E., Gullberg, B., Hellstrand, S., Hindy, G., Wirfalt, E. & Orholm-Melander, M.** (2013) High intakes of protein and processed meat associate with increased incidence of type 2 diabetes. *Br J Nutr*, 109, 1143-1153.
- Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J.P., Druart, C., Bindels, L.B., Guiot, Y., Derrien, M., Muccioli, G.G., Delzenne, N.M., et al.** (2013) Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110, 9066-9071.
- Ferber, K.M., Keller, E., Albert, E.D. & Ziegler, A.G.** (1999) Predictive value of human leukocyte antigen class II typing for the development of islet autoantibodies and insulin-dependent diabetes pp in women with gestational diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 84, 2342-2348.
- Finkelstein, S.A., Keely, E., Feig, D.S., Tu, X., Yasseen, A.S., 3rd & Walker, M.** (2013) Breastfeeding in women with diabetes: lower rates despite greater rewards. A population-based study. *Diabet Med*, 30, 1094-1101.
- Ford, E.S., Ajani, U.A., McGuire, L.C. & Liu, S.** (2005) Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care*, 28, 1228-1230.
- Freinkel, N.** (1980) Banting Lecture 1980. Of pregnancy and progeny. *Diabetes*, 29, 1023-1035.
- Frey, I., Berg, A., Grathwohl, D. & Keul, J.** (1999) Freiburger Fragebogen zur körperlichen Aktivität-Entwicklung, Prüfung und Anwendung. *Sozial- und Präventivmedizin*, 44, 55-64.
- Frisch, A., Toeller, M. & Müller-Wieland, D.** (2010) Ernährungserhebungsmethoden in der Ernährungsepidemiologie. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 5, 301-308.
- Fuchtenbusch, M., Ferber, K., Standl, E. & Ziegler, A.G.** (1997) Prediction of type 1 diabetes pp in patients with gestational diabetes mellitus by combined islet cell autoantibody screening: a prospective multicenter study. *Diabetes*, 46, 1459-1467.
- Fujimura, K.E., Slusher, N.A., Cabana, M.D. & Lynch, S.V.** (2010) Role of the gut microbiota in defining human health. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 8, 435-454.
- Gillman, M.W., Oakey, H., Baghurst, P.A., Volkmer, R.E., Robinson, J.S. & Crowther, C.A.** (2010) Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on obesity in the next generation. *Diabetes Care*, 33, 964-968.
- Greenberg, L.R., Moore, T.R. & Murphy, H.** (1995) Gestational diabetes mellitus:

- antenatal variables as predictors of pp glucose intolerance. *Obstet Gynecol*, 86, 97-101.
- Grineva, E.N., Karonova, T., Micheeva, E., Belyaeva, O. & Nikitina, I.L.** (2013) Vitamin D deficiency is a risk factor for obesity and diabetes type 2 in women at late reproductive age. *Aging (Albany NY)*, 5, 575-81.
- Gunderson, E.P., Hedderon, M.M., Chiang, V., Crites, Y., Walton, D., Azevedo, R.A., Fox, G., Elmasian, C., Young, S., Salvador, N., et al.** (2012) Lactation intensity and pp maternal glucose tolerance and insulin resistance in women with recent GDM: the SWIFT cohort. *Diabetes Care*, 35, 50-56.
- HAPO** (2008) Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes. *New England Journal of Medicine*, 358, 1991-2002.
- Harlev, A. & Wiznitzer, A.** (2010) New insights on glucose pathophysiology in gestational diabetes and insulin resistance. *Curr Diab Rep*, 10, 242-247.
- Harris, M.I., Klein, R., Welborn, T.A. & Knudman, M.W.** (1992) Onset of NIDDM occurs at least 4-7 yr before clinical diagnosis. *Diabetes Care*, 15, 815-819.
- Hediger, M.L., Overpeck, M.D., McGlynn, A., Kuczmarski, R.J., Maurer, K.R. & Davis, W.W.** (1999) Growth and fatness at three to six years of age of children born small- or large-for-gestational age. *Pediatrics*, 104, e33.
- Heseker, H., Mensink, G., Richter, A., Stahl, A. & Vohmann, C.** (2008) *Lebensmittelverzehr und Nährstoffzufuhr im Kindes- und Jugendalter - Ergebnisse aus den beiden bundesweit durchgeführten Ernährungsstudien VELS und EsKiMo*, Bonn, Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.
- Hirschler, V., Bugna, J., Roque, M., Gilligan, T. & Gonzalez, C.** (2008) Does low birth weight predict obesity/overweight and metabolic syndrome in elementary school children? *Arch Med Res*, 39, 796-802.
- Hu, F.B.** (2011) Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care*, 34, 1249-1257.
- Hummel, S., Hummel, M., Knopff, A., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2008) [Breastfeeding in women with gestational diabetes]. *Dtsch Med Wochenschr*, 133, 180-184.
- Hummel, S., Much, D., Rossbauer, M., Ziegler, A.G. & Beyerlein, A.** (2013) Postpartum Outcomes in Women with Gestational Diabetes and their Offspring: POGO Study Design and First-Year Results. *Rev Diabet Stud*, 10, 49-57.
- Hunger-Dathe, W., Mosebach, N., Samann, A., Wolf, G. & Muller, U.A.** (2006) Prevalence of impaired glucose tolerance 6 years after gestational diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 114, 11-17.
- Huy, C., Loerbroks, A., Hornemann, A., Röhrig, S. & Schneider, S.** (2012) Prevalence, Trend and Determining Factors of Gestational Diabetes in Germany. *Geburtsh Frauenheilk*, 72, 311-315.
- IQWiG** (2009) *Screening auf Gestationsdiabetes*, Köln, Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen.
- Jeffery, I.B. & O'Toole, P.W.** (2013) Diet-microbiota interactions and their implications for healthy living. *Nutrients*, 5, 234-252.
- Jones, R.G., Ilic, V. & Williamson, D.H.** (1984) Physiological significance of altered insulin metabolism in the conscious rat during lactation. *Biochem J*, 220, 455-460.
- Karlsson, C.L., Onnerfalt, J., Xu, J., Molin, G., Ahrne, S. & Thorngren-Jerneck, K.** (2012) The microbiota of the gut in preschool children with normal and excessive body weight. *Obesity (Silver Spring)*, 20, 2257-2261.
- Kautzky-Willer, A. & Handisurya, A.** (2009) Gestationsdiabetes. *Journal für Klinische Endokrinologie und Stoffwechsel*, 2, 7-13.

- Kerner, W. & Brückel, J.** (2012) Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 7, S84-S87.
- Kerner, W., Brueckel, J. & Boehm, B.O.** (2001) Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. In: Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinien DDG. Deutsche Diabetes-Gesellschaft.
- Kim, H., Toyofuku, Y., Lynn, F.C., Chak, E., Uchida, T., Mizukami, H., Fujitani, Y., Kawamori, R., Miyatsuka, T., Kosaka, Y., et al.** (2010a) Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. *Nat Med*, 16, 804-808.
- Kim, S.H., Kim, M.Y., Yang, J.H., Park, S.Y., Yim, C.H., Han, K.O., Yoon, H.K. & Park, S.** (2011) Nutritional risk factors of early development of pp prediabetes and diabetes in women with gestational diabetes mellitus. *Nutrition*, 27, 782-788.
- Kim, S.Y., England, L., Wilson, H.G., Bish, C., Satten, G.A. & Dietz, P.** (2010b) Percentage of gestational diabetes mellitus attributable to overweight and obesity. *Am J Public Health*, 100, 1047-152.
- Kjos, S.L., Henry, O., Lee, R.M., Buchanan, T.A. & Mishell, D.R., Jr.** (1993) The effect of lactation on glucose and lipid metabolism in women with recent gestational diabetes. *Obstet Gynecol*, 82, 451-5.
- Kjos, S.L., Peters, R.K., Xiang, A., Henry, O.A., Montoro, M. & Buchanan, T.A.** (1995) Predicting future diabetes in Latino women with gestational diabetes. Utility of early pp glucose tolerance testing. *Diabetes*, 44, 586-91.
- Kleinwechter H., Schäfer-Graf U., Bühner C., Hoesli I., Kainer F., Kautzky-Willer A., Pawlowski B., Schunck K., Somville T. & M., S.** (2011) Gestationsdiabetes mellitus. Evidenzbasierte Leitlinie zu Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Kiel, Stuttgart, Berlin: Deutsche Diabetes-Gesellschaft und Deutsche Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe.
- Kleiser, C., Schaffrath Rosario, A., Mensink, G.B., Prinz-Langenohl, R. & Kurth, B.M.** (2009) Potential determinants of obesity among children and adolescents in Germany: results from the cross-sectional KiGGS Study. *BMC Public Health*, 9, 46.
- Köhler, M., Beyerlein, A. & Ziegler, A.-G.** (2014) Entwicklung eines T2D-Risikoscores für Frauen mit vorangegangener Gestationsdiabetes. *Diabetologie und Stoffwechsel*, submitted.
- Kowall, B., Rathmann, W., Strassburger, K., Meisinger, C., Holle, R. & Mielck, A.** (2011) Socioeconomic status is not associated with type 2 diabetes incidence in an elderly population in Germany: KORA S4/F4 cohort study. *J Epidemiol Community Health*, 65, 606-612.
- Krebs, M., Krssak, M., Bernroider, E., Anderwald, C., Brehm, A., Meyerspeer, M., Nowotny, P., Roth, E., Waldhausl, W. & Roden, M.** (2002) Mechanism of amino acid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes*, 51, 599-605.
- Kromeyer-Hauschild, K., Wabitsch, M., Kunze, D., Geller, F., Geiß, H., Hesse, V., von Hippel, A., Jaeger, U., Johnsen, D., Korte, W., et al.** (2001) Perzentile fuer den Body-mass-Index fuer das Kinder- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschr Kinderheilkd*, 8, 807-818.
- Laird, N.M. & Ware, J.H.** (1982) Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics*, 38, 963-974.
- Lampert, T., Kroll, L.E., Lippe, E., Müters, S. & Stolzenberg, H.** (2013) Sozioökonomischer Status und Gesundheit. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 56, 814-821.
- Lange, C., Schenk, L. & Bergmann, R.** (2007a) Verbreitung, Dauer und zeitlicher Trend des Stillens in Deutschland. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 50, 624-633.

- Lange, M., Kamtsiuris, P., Lange, C., Schaffrath Rosario, A., Stolzenberg, H. & Lampert, T.** (2007b) Sociodemographic characteristics in the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS) - operationalisation and public health significance, taking as an example the assessment of general state of health. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 50, 578-589.
- Larsen, N., Vogensen, F.K., van den Berg, F.W., Nielsen, D.S., Andreasen, A.S., Pedersen, B.K., Al-Soud, W.A., Sorensen, S.J., Hansen, L.H. & Jakobsen, M.** (2010) Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One*, 5, e9085.
- Lauenborg, J., Hansen, T., Jensen, D.M., Vestergaard, H., Molsted-Pedersen, L., Hornnes, P., Locht, H., Pedersen, O. & Damm, P.** (2004) Increasing incidence of diabetes after gestational diabetes: a long-term follow-up in a Danish population. *Diabetes Care*, 27, 1194-1199.
- Lavigne, P.M. & Karas, R.H.** (2013) The current state of niacin in cardiovascular disease prevention: a systematic review and meta-regression. *J Am Coll Cardiol*, 61, 440-446.
- Lawlor, D.A., Fraser, A., Lindsay, R.S., Ness, A., Dabelea, D., Catalano, P., Davey Smith, G., Sattar, N. & Nelson, S.M.** (2010) Association of existing diabetes, gestational diabetes and glycosuria in pregnancy with macrosomia and offspring Body-Mass-Index, waist and fat mass in later childhood: findings from a prospective pregnancy cohort. *Diabetologia*, 53, 89-97.
- Lederberg, J. & McCray, A.** (2001) *Ôme Sweet ÔmicsÔ a genealogical treasury of words.* *Scientist*, 15: 8.
- Legendre, P. & Legendre, L.** (2012) *Numerical Ecology*, Amsterdam, Elsevier Science BV.
- Ley, R.E., Turnbaugh, P.J., Klein, S. & Gordon, J.I.** (2006) Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444, 1022-1023.
- Lindsay, R.S.** (2009) Gestational diabetes: causes and consequences. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*, 9, 27-31.
- Löbner, K., Knopff, A., Baumgarten, A., Mollenhauer, U., Marienfeld, S., Garrido-Franco, M., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2006) Predictors of pp diabetes in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes*, 55, 792-797.
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., Attiya, S., Bader, J.S., Bembien, L.A., Berka, J., Braverman, M.S., Chen, Y.J., Chen, Z., et al.** (2005) Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*, 437, 376-380.
- McClenaghan, N.H.** (2005) Determining the relationship between dietary carbohydrate intake and insulin resistance. *Nutr Res Rev*, 18, 222-240.
- McClure, C.K., Schwarz, E.B., Conroy, M.B., Tepper, P.G., Janssen, I. & Sutton-Tyrrell, K.C.** (2011) Breastfeeding and subsequent maternal visceral adiposity. *Obesity (Silver Spring)*, 19, 2205-2213.
- Mehnert, H. & Standl, E.** (1998) [type 2 diabetes. *Internist (Berl)*, 39, 381-397.
- Mensink, G.B.M., Bauch, A., Vohmann, C., Stahl, A., Six, J., Kohler, S., Fischer, J. & Hesecker, H.** (2007) EsKiMo Ó Das Ernährungsmodul im Kinder- und Jugendgesundheitsurvey (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 50, 902-908.
- Metzger, B.E.** (2007) Long-term outcomes in mothers diagnosed with gestational diabetes mellitus and their offspring. *Clin Obstet Gynecol*, 50, 972-979.
- Metzger, B.E., Buchanan, T.A., Coustan, D.R., de Leiva, A., Dunger, D.B., Hadden, D.R., Hod, M., Kitzmiller, J.L., Kjos, S.L., Oats, J.N., et al.** (2007) Summary and recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 30 Suppl 2, S251-260.

- Metzger, B.E., Bybee, D.E., Freinkel, N., Phelps, R.L., Radvany, R.M. & Vaisrub, N.** (1985) Gestational diabetes mellitus. Correlations between the phenotypic and genotypic characteristics of the mother and abnormal glucose tolerance during the first year pp. *Diabetes*, 34 Suppl 2, 111-115.
- Metzger, B.E., Lowe, L.P., Dyer, A.R., Trimble, E.R., Chaovarindr, U., Coustan, D.R., Hadden, D.R., McCance, D.R., Hod, M., McIntyre, H.D., et al.** (2008) Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*, 358, 1991-2002.
- Metzker, M.L.** (2010) Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet*, 11, 31-46.
- Miehle, K., Stepan, H. & Fasshauer, M.** (2012) Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 76, 2-11.
- Mitanchez, D.** (2010) Foetal and neonatal complications in gestational diabetes: perinatal mortality, congenital malformations, macrosomia, shoulder dystocia, birth injuries, neonatal complications. *Diabetes Metab*, 36, 617-627.
- Mueller, S., Saunier, K., Hanisch, C., Norin, E., Alm, L., Midtvedt, T., Cresci, A., Silvi, S., Orpianesi, C., Verdenelli, M.C., et al.** (2006) Differences in fecal microbiota in different European study populations in relation to age, gender, and country: a cross-sectional study. *Appl Environ Microbiol*, 72, 1027-1033.
- Nehring, I., Chmitorz, A., Reulen, H., von Kries, R. & Ensenauer, R.** (2013) Gestational diabetes predicts the risk of childhood overweight and abdominal circumference independent of maternal obesity. *Diabet Med*, 30, 1449-1456.
- Neish, A.S.** (2009) Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136, 65-80.
- Neu, A., Beyer, P., Bürger-Büsing, J., Danne, T., Etspüler, J., Heidtmann, B., Holl, R.W., Karges, B., Kiess, W., Knerr, I., et al.** (2012) Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 7, S152-S162.
- Neubauer, S.H., Ferris, A.M., Chase, C.G., Fanelli, J., Thompson, C.A., Lammi-Keefe, C.J., Clark, R.M., Jensen, R.G., Bendel, R.B. & Green, K.W.** (1993) Delayed lactogenesis in women with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 58, 54-60.
- Neuhauser, H., Schienkiewitz, A., Schaffrath Rosario, A., Dortsch, R. & Kurth, B.-M.** (2011) Referenzperzentile für anthropometrische Maßzahlen und Blutdruck aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS) 2003-2006. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. In: KOCH-INSTITUT, R. (ed.). Berlin.
- Nicholson, J.K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W. & Pettersson, S.** (2012) Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science*, 336, 1262-1267.
- Nolan, C.J., Damm, P. & Prentki, M.** (2011) Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*, 378, 169-181.
- NVS II, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz.** (2008a) Nationale Verzehrsstudie II - Ergebnisbericht Teil 1. Karlsruhe: Max Rubner-Institut, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel.
- NVS II, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz.** (2008b) Nationale Verzehrsstudie II - Ergebnisbericht Teil 2. Karlsruhe: Max Rubner-Institut, Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel.
- NVS II, Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz.** (2008c) Nationale Verzehrsstudie II. Ergänzungsband zum Ergebnisbericht, Teil 1. Ausgewählte Ergebnisse nach Schichtindex.
- Opper, E., Worth, A., Wagner, M. & Bös, K.** (2007) Motorik-Modul (MoMo) im Rahmen

- des Kinder- und Jugendgesundheits surveys (KiGGS). Available: <http://edoc.rki.de/docviews/abstract.php?id=397> [Accessed 05.07.2013].
- Pallardo, F., Herranz, L., Garcia-Ingelmo, T., Grande, C., Martin-Vaquero, P., Janez, M. & Gonzalez, A.** (1999) Early pp metabolic assessment in women with prior gestational diabetes. *Diabetes Care*, 22, 1053-1058.
- Palmer, C., Bik, E.M., DiGiulio, D.B., Relman, D.A. & Brown, P.O.** (2007) Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol*, 5, e177.
- Pascoe, L., Tura, A., Patel, S.K., Ibrahim, I.M., Ferrannini, E., Zeggini, E., Weedon, M.N., Mari, A., Hattersley, A.T., McCarthy, M.I., et al.** (2007) Common variants of the novel type 2 diabetes genes CDKAL1 and HHEX/IDE are associated with decreased pancreatic beta-cell function. *Diabetes*, 56, 3101-3104.
- Pendergrass, M., Fazoni, E. & De Fronzo, R.** (1995) Non-insulin-dependent diabetes mellitus and gestational diabetes mellitus: same disease, another name? *Diabetes Reviews*, 3, 566-583.
- Penders, J., Vink, C., Driessen, C., London, N., Thijs, C. & Stobberingh, E.E.** (2005) Quantification of Bifidobacterium spp., Escherichia coli and Clostridium difficile in faecal samples of breast-fed and formula-fed infants by real-time PCR. *FEMS Microbiol Lett*, 243, 141-147.
- Pettitt, D.J., Nelson, R.G., Saad, M.F., Bennett, P.H. & Knowler, W.C.** (1993) Diabetes and obesity in the offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. *Diabetes Care*, 16, 310-314.
- Phan, B.A., Munoz, L., Shadzi, P., Isquith, D., Triller, M., Brown, B.G. & Zhao, X.Q.** (2013) Effects of niacin on glucose levels, coronary stenosis progression, and clinical events in subjects with normal baseline glucose levels (<100 mg/dl): a combined analysis of the Familial Atherosclerosis Treatment Study (FATS), HDL-Atherosclerosis Treatment Study (HATS), Armed Forces Regression Study (AFREGS), and Carotid Plaque Composition by MRI during lipid-lowering (CPC) study. *Am J Cardiol*, 111, 352-355.
- Prior, E., Santhakumaran, S., Gale, C., Philipps, L.H., Modi, N. & Hyde, M.J.** (2012) Breastfeeding after cesarean delivery: a systematic review and meta-analysis of world literature. *Am J Clin Nutr*, 95, 1113-1135.
- Pulizzi, N., Lyssenko, V., Jonsson, A., Osmond, C., Laakso, M., Kajantie, E., Barker, D.J., Groop, L.C. & Eriksson, J.G.** (2009) Interaction between prenatal growth and high-risk genotypes in the development of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 52, 825-829.
- R Core Team** (2012) *R: A language and environment for statistical computing.*, Vienna, Austria, R Foundation for Statistical Computing.
- Rasmussen, K.M. & Kjolhede, C.L.** (2004) Prepregnant overweight and obesity diminish the prolactin response to suckling in the first week pp. *Pediatrics*, 113, e465-471.
- Rieck, S. & Kaestner, K.H.** (2010) Expansion of beta-cell mass in response to pregnancy. *Trends Endocrinol Metab*, 21, 151-158.
- Robert Koch Institut (RKI)** (2008) *KiGGS Kinder- und Jugendgesundheits survey 2003 - 2006. Public Use File*, Berlin, Robert Koch-Institut.
- Roche 454** (2009) Genome Sequencer FLX System Software Manual Version. 2.3, Part B: - GS Run Processor -GS Reporter -GS Run Browser - GS Support Tool. Brandford USA: 454 Life Sciences Corp. A.
- Ronaghi, M., Nygren, M., Lundberg, J. & Nyren, P.** (1999) Analyses of secondary structures in DNA by pyrosequencing. *Anal Biochem*, 267, 65-71.
- Roßbauer, M., Adler, K., Winkler, C., Grallert, H., Illig, T., Ziegler, A.G. & Hummel, S.** (2011) Influence of type 2 associated polymorphisms on weight development in offspring of mothers with gestational diabetes. Abstracts of the 47th Annual Meeting

- of the EASD, Lisbon. *Diabetologia*, 54, 162.
- Roßbauer, M., Rothbaler, M., Endesfelder, D., Hartmann, A., Hummel, S. & Ziegler, A.G.** (2014) Die Rolle des Darm-Mikrobioms bei der postpartalen Entwicklung von Typ 2 Diabetes bei Müttern mit GDM und Übergewicht bei deren Kindern. 49. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. . *Diabetologie und Stoffwechsel*, accepted.
- Rubin, D.B.** (1987) *Multiple Imputation for Nonresponse in Surveys.* , New York John Wiley & Sons.
- Ryan, A.S., Wenjun, Z. & Acosta, A.** (2002) Breastfeeding continues to increase into the new millennium. *Pediatrics*, 110, 1103-1109.
- Santacruz, A., Collado, M.C., Garcia-Valdes, L., Segura, M.T., Martin-Lagos, J.A., Anjos, T., Marti-Romero, M., Lopez, R.M., Florido, J., Campoy, C., et al.** (2010) Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr*, 104, 83-92.
- Schäfer-Graf, U.** (2011) Diagnostik und Behandlung des Gestationsdiabetes entsprechend den aktuellsten Leitlinien. Diagnostic procedura and treatment of gestational diabetes according to the most recent guidelines / CME-Fragebogen. *Adipositas*, 5, 121.
- Schäfer-Graf, U.M., Buchanan, T.A., Xiang, A.H., Peters, R.K. & Kjos, S.L.** (2002) Clinical predictors for a high risk for the development of diabetes mellitus in the early puerperium in women with recent gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*, 186, 751-756.
- Schäfer-Graf, U.M., Dupak, J., Vogel, M., Dudenhausen, J.W., Kjos, S.L., Buchanan, T.A. & Vetter, K.** (1998) Hyperinsulinism, neonatal obesity and placental immaturity in infants born to women with one abnormal glucose tolerance test value. *J Perinat Med*, 26, 27-36.
- Schäfer-Graf, U.M., Klavehn, S., Hartmann, R., Kleinwechter, H., Demandt, N., Sorger, M., Kjos, S.L., Vetter, K. & Abou-Dakn, M.** (2009) How do we reduce the number of cases of missed pp diabetes in women with recent gestational diabetes mellitus? *Diabetes Care*, 32, 1960-1964.
- Schäfer-Graf, U.M. & Vetter, K.** (1999) Diabetes and pregnancy]. *Ther Umsch*, 56, 572-576.
- Schienkiewitz, A., Schulze, M.B., Hoffmann, K., Kroke, A. & Boeing, H.** (2006) Body-Mass-Index history and risk of type 2 diabetes: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Am J Clin Nutr*, 84, 427-433.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., et al.** (2009) Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 7537-7541.
- Schulze, M.B., Al-Hasani, H., Boeing, H., Fisher, E., Doring, F. & Joost, H.G.** (2007) Variation in the HHEX-IDE gene region predisposes to type 2 diabetes in the prospective, population-based EPIC-Potsdam cohort. *Diabetologia*, 50, 2405-2407.
- Schulze, M.B., Schulz, M., Heidemann, C., Schienkiewitz, A., Hoffmann, K. & Boeing, H.** (2008) Carbohydrate intake and incidence of type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Br J Nutr*, 99, 1107-1116.
- Schwarz, E.B., Brown, J.S., Creasman, J.M., Stuebe, A., McClure, C.K., Van Den Eeden, S.K. & Thom, D.** (2010) Lactation and maternal risk of type 2 diabetes: a population-based study. *Am J Med*, 123, 863.e1-6.

- Sciences, L.** (2013) Branford USA: 454 Life Sciences, a Roche company. Available: <http://454.com/products/gx-flx-system/index.asp> [Accessed 27.08 2013].
- Scragg, R., Sowers, M. & Bell, C.** (2004) Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*, 27, 2813-8.
- Shankar, K., Harrell, A., Liu, X., Gilchrist, J.M., Ronis, M.J. & Badger, T.M.** (2008) Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 294, R528-538.
- Shankar, K., Kang, P., Harrell, A., Zhong, Y., Marecki, J.C., Ronis, M.J. & Badger, T.M.** (2010) Maternal overweight programs insulin and adiponectin signaling in the offspring. *Endocrinology*, 151, 2577-2589.
- Shokralla, S., Spall, J.L., Gibson, J.F. & Hajibabaei, M.** (2012) Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol Ecol*, 21, 1794-1805.
- Slaughter, M.H., Lohman, T.G., Boileau, R.A., Horswill, C.A., Stillman, R.J., Van Loan, M.D. & Bembien, D.A.** (1988) Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. *Hum Biol*, 60, 709-723.
- Sluijs, I., Beulens, J.W., van der, A.D., Spijkerman, A.M., Grobbee, D.E. & van der Schouw, Y.T.** (2010a) Dietary intake of total, animal, and vegetable protein and risk of type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-NL study. *Diabetes Care*, 33, 43-48.
- Sluijs, I., van der Schouw, Y.T., van der, A.D., Spijkerman, A.M., Hu, F.B., Grobbee, D.E. & Beulens, J.W.** (2010b) Carbohydrate quantity and quality and risk of type 2 diabetes in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands (EPIC-NL) study. *Am J Clin Nutr*, 92, 905-911.
- Stage, E., Ronneby, H. & Damm, P.** (2004) Lifestyle change after gestational diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 63, 67-72.
- Stolzenberg, H., Kahl, H. & Bergmann, K.E.** (2007) Körpermaße bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland. Ergebnisse des Kinder- und Jugendgesundheits surveys (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 5/6.
- Stuebe, A.M., Rich-Edwards, J.W., Willett, W.C., Manson, J.E. & Michels, K.B.** (2005) Duration of lactation and incidence of type 2 diabetes. *Jama*, 294, 2601-2610.
- Takiishi, T., Gysemans, C., Bouillon, R. & Mathieu, C.** (2010) Vitamin D and diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 39, 419-446.
- Thorand, B., Zierer, A., Huth, C., Linseisen, J., Meisinger, C., Roden, M., Peters, A., Koenig, W. & Herder, C.** (2011) Effect of serum 25-hydroxyvitamin D on risk for type 2 diabetes may be partially mediated by subclinical inflammation: results from the MONICA/KORA Augsburg study. *Diabetes Care*, 34, 2320-2322.
- Tiepol, S.** (2002) Verzehrshäufigkeiten ballaststoffhaltiger Lebensmittel bei Diabetikern aus zwei Regionen Deutschlands - Implementierung der Ernährungsempfehlungen der Deutschen Diabetes-Gesellschaft. *Aktuelle Ernährungsmedizin*, 27, 157.
- Toeller, M., Frisch, A. & Müller-Wieland, D.** (2010) Fragebogen zur Erfassung der Nahrungsaufnahme in Risikogruppen (NARI). *Diabetologie und Stoffwechsel*, 5, 309-314.
- Tsai, F. & Coyle, W.J.** (2009) The microbiome and obesity: is obesity linked to our gut flora? *Curr Gastroenterol Rep*, 11, 307-313.
- Turnbaugh, P.J., Backhed, F., Fulton, L. & Gordon, J.I.** (2008) Diet-induced obesity is linked to marked but reversible alterations in the mouse distal gut microbiome. *Cell Host Microbe*, 3, 213-223.
- Turnbaugh, P.J., Hamady, M., Yatsunenko, T., Cantarel, B.L., Duncan, A., Ley, R.E., Sogin, M.L., Jones, W.J., Roe, B.A., Affourtit, J.P., et al.** (2009) A core gut

- microbiome in obese and lean twins. *Nature*, 457, 480-484.
- Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M.A., Magrini, V., Mardis, E.R. & Gordon, J.I.** (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444, 1027-1031.
- Van Kappel, A., Amoyel, J., Slimani, N., Vozar, B. & Riboli, E.** (2006) EPIC-SOFT picture book. *International Agency for Research on Cancer*.
- Vessby, B., Uusitupa, M., Hermansen, K., Riccardi, G., Rivellese, A.A., Tapsell, L.C., Nalsen, C., Berglund, L., Louheranta, A., Rasmussen, B.M., et al.** (2001) Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study. *Diabetologia*, 44, 312-319.
- Voigt, M., Schneider, K.T. & Jahrig, K.** (1996) Analysis of a 1992 birth sample in Germany. 1: New percentile values of the body weight of newborn infants. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 56, 550-558.
- Walburg, V., Goehlich, M., Conquet, M., Callahan, S., Scholmerich, A. & Chabrol, H.** (2010) Breast feeding initiation and duration: comparison of French and German mothers. *Midwifery*, 26, 109-115.
- Waldhäusl, W.K., Gries, A.F. & Scherbaum, W.A.** (2004) Diabetes in der Schwangerschaft. *Diabetes in der Praxis*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M. & Cole, J.R.** (2007) Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 5261-5267.
- Weiss, P.A., Walcher, W. & Scholz, H.S.** (1999) Der vernachlässigte Gestationsdiabetes: Risiken und Folgen. *Geburtsh Frauenheilk*, 59, 535-544.
- Werner, T., Wagner, S.J., Martinez, I., Walter, J., Chang, J.S., Clavel, T., Kisling, S., Schuemann, K. & Haller, D.** (2011) Depletion of luminal iron alters the gut microbiota and prevents Crohn's disease-like ileitis. *Gut*, 60, 325-333.
- WHO** (2006) Breastfeeding in the WHO Multicentre Growth Reference Study. *Acta Paediatr Suppl*, 450, 16-26.
- WHO/UNICEF.** (1990) *Innocenti Declaration on the Protection, Promotion and Support of Breastfeeding* [Online]. <http://www.unicef.org/programme/breastfeeding/innocenti.htm> [Accessed 02.01.2014 2014].
- Winkler, C., Bonifacio, E., Grallert, H., Henneberger, L., Illig, T. & Ziegler, A.G.** (2010a) BMI at age 8 years is influenced by the type 2 diabetes susceptibility genes HHEX-IDE and CDKAL1. *Diabetes*, 59, 2063-2067.
- Winkler, C., Bonifacio, E., Grallert, H., Henneberger, L., Illig, T. & Ziegler, A.G.** (2010b) Wachstum im Kindesalter wird durch die Typ 2 Diabetes Risiko Gene HHEX-IDE und CDKAL1 beeinflusst. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 5, FV19.
- Winkler, C., Illig, T., Koczwara, K., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2009) HHEX-IDE polymorphism is associated with low birth weight in offspring with a family history of type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 94, 4113-4115.
- Worda, C., Leipold, H., Gruber, C., Kautzky-Willer, A., Knofler, M. & Bancher-Todesca, D.** (2004) Decreased plasma adiponectin concentrations in women with gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol*, 191, 2120-2124.
- Wroblewska-Seniuk, K., Wender-Ozegowska, E. & Szczapa, J.** (2009) Long-term effects of diabetes during pregnancy on the offspring. *Pediatr Diabetes*, 10, 432-440.
- Yatsunenkov, T., Rey, F.E., Manary, M.J., Trehan, I., Dominguez-Bello, M.G., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Baldassano, R.N., Anokhin, A.P., et al.** (2012) Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486, 222-227.

- Yessoufou, A. & Moutairou, K.** (2011) Maternal diabetes in pregnancy: early and long-term outcomes on the offspring and the concept of "metabolic memory". *Exp Diabetes Res*, 2011, 218598.
- Yuan, S., Cohen, D.B., Ravel, J., Abdo, Z. & Forney, L.J.** (2012) Evaluation of methods for the extraction and purification of DNA from the human microbiome. *PLoS One*, 7, e33865.
- Zhang, X., Shen, D., Fang, Z., Jie, Z., Qiu, X., Zhang, C., Chen, Y. & Ji, L.** (2013) Human gut microbiota changes reveal the progression of glucose intolerance. *PLoS One*, 8, e71108.
- Zhao, J., Bradfield, J.P., Li, M., Wang, K., Zhang, H., Kim, C.E., Annaiah, K., Glessner, J.T., Thomas, K., Garris, M., et al.** (2009) The role of obesity-associated loci identified in genome-wide association studies in the determination of pediatric BMI. *Obesity (Silver Spring)*, 17, 2254-2257.
- Zhao, J., Bradfield, J.P., Zhang, H., Annaiah, K., Wang, K., Kim, C.E., Glessner, J.T., Frackelton, E.C., Otieno, F.G., Doran, J., et al.** (2010) Examination of all type 2 diabetes GWAS loci reveals HHEX-IDE as a locus influencing pediatric BMI. *Diabetes*, 59, 751-755.
- Zhou, S.S., Li, D., Zhou, Y.M., Sun, W.P. & Liu, Q.G.** (2010) B-vitamin consumption and the prevalence of diabetes and obesity among the US adults: population based ecological study. *BMC Public Health*, 10, 746.
- Ziegler, A.G., Wallner, M., Kaiser, I., Rossbauer, M., Harsunen, M.H., Lachmann, L., Maier, J., Winkler, C. & Hummel, S.** (2012) Long-term protective effect of lactation on the development of type 2 diabetes in women with recent gestational diabetes mellitus. *Diabetes*, 61, 3167-3171.

8. Anhang

Abbildungen

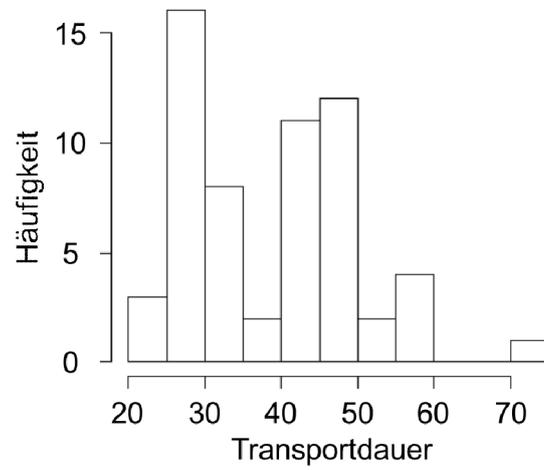


Abb. 8.1 Transportdauer der Faeces-Proben und deren Häufigkeitsverteilung.

Tabellen

Tab. 8.1 D-A-CH-Referenzwerte für die tägliche Energie und Nährstoffaufnahme (DGE et al., 2012)

Nährstoffgruppe		Nährstoffe		D-A-CH-Referenzwerte
Energie		Energie	[kcal]	2100,00
Makro-nährstoffe	Protein	Protein	[g]	47,00
		Protein	[EN %]	12,50 ¹
	Fett	Fett	[EN %]	30,00
		Cholesterin	[mg]	300,00
	Kohlenhydrate	Kohlenhydrate	[EN %]	57,50
Ballaststoffe (BS)		[g]	30,00	
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A	[mg]	0,80
		Vitamin D	[g]	20,00
		Vitamin E	[mg]	12,00
		Vitamin K	[g]	60,00
		Vitamin C	[mg]	13,00
		Vitamin B1	[mg]	1,00
		Vitamin B2	[mg]	1,20
		Vitamin B3	[mg]	13,00
		Vitamin B5	[mg]	6,00
		Vitamin B6	[mg]	0,15
		Vitamin B7	[g]	45,00
		Vitamin B9	[g]	300,00
		Vitamin B12	[g]	0,38
	Mineralstoffe	Calcium	[mg]	1000,00
		Phosphor	[mg]	700,00
		Magnesium	[mg]	300,00
		Natrium	[mg]	550,00
		Chlorid	[mg]	830,00
		Kalium	[mg]	2000,00
		Eisen	[mg]	15,00
Jodid	[g]	200,00		
Zink	[mg]	7,00		

¹ Der Richtwert für den Energieanteil von Kohlenhydraten (> 50 EN %) ergibt sich aus der Differenz der Summe des Richtwerts für die Fettzufuhr (30 EN %) und der empfohlenen Proteinzufuhr (hier 12,5 %) zu 100 EN %, EN%: prozentualer Anteil an der Gesamtenergieaufnahme.

Anhang

Tab. 8.2 Vergleich verschiedener Methoden zur DNA-Isolierung aus Faeces Proben

	MoBio Soil		MoBio Faeces		QIAamp		MACHEREY & NAGEL		Labor Clavel	
Probenmenge (mg)	100 mg	200 mg	100 mg	200 mg	100 mg	200 mg	100 mg	200 mg	100	200
Volumen DNA (l)	100 ul	100 ul	50 ul	50 ul	200 ul	200 ul	50 ul	50 ul	100	100
Soll Konz DNA (ng/ l)	?	?	?	?	75-300	75-300	4-20	4-20	?	
Ist Konz DNA (ng/ l)	4,6- 645,5	2,3-29,1	9,5-113,3	5,3-32,5	4,1-30,3	5,3-31,5	3,2-28,1	7,2-38,4	2,3-4,1	1,3-2,3
Soll Menge DNA (ug)	-	-	-	-	15-60	15-60	2-10	2-10	-	-
Ist Menge DNA (ug)	4,6-45,5	2,3-29,1	4,8-56,7	2,65-16,3	8,2-60,6	10,6-63,0	1,6-12,6	3,6-19,1	2,3-4,1	1,3-2,3
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Zeitaufwand pro 12 Proben	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+
Handhabung	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+	+
Kosten pro Probe (p)	4,13	4,13	4,42	4,42	4,28	4,28	2,78	2,78	2,57	2,57
Qualität	++	++	+++	+++	++	++	+++	+++	+	+

Tab. 8.3 Bildung des sozioökonomischen Schichtindex der POGO-Mütter mit GDM

Variablen	n (%)
Ausbildung	100
(noch) kein Schulabschluss	4 (4,0)
Hauptschulabschluss	9 (9,0)
Realschulabschluss	5 (5,0)
Abitur	5 (5,0)
Berufsausbildung	37 (37,0)
Studium	40 (40,0)
Nettoeinkommen	
< 1000	77
1000 bis < 2000	10 (13,0)
2000 bis < 3000	15 (19,5)
3000 bis < 4000	26 (33,8)
> 4000	25 (32,5)
Sozioökonomischer Schichtindex	100
Unterschicht (2, 3, 4)	8 (8,0)
Mittelschicht (5, 6, 7, 8)	26 (26,0)
Oberschicht (9, 10, 11)	66 (66,0)

Anhang

Tab. 8.4 Vergleich der anthropometrischen Daten zwischen GDM-Kindern der POGO-Kohorte und des KiGGS, durch die Berechnung eines alters- und geschlechtsspezifischen \check{S} Standard Deviation Scores \check{o} (SDS) für das Gewicht, Trizeps- und Subscapuläre Hautfalte, sowie für die Summe der Hautfalten

		Mittelwert	95 % KI	p
Mädchen	Gewichts-SDS	0,02	-0,30 \acute{o} 0,35	0,88
	BMI-SDS	-0,12	-0,47 \acute{o} 0,24	0,52
	Trizeps-Hautfalten-SDS	-0,21	-0,54 \acute{o} 0,12	0,21
	Subscapular-Hautfalten-SDS	0,20	-0,12 \acute{o} 0,52	0,21
	Summe der Hautfalten-SDS	0,04	-0,22 \acute{o} 0,30	0,76
Jungen	Gewichts-SDS	-0,01	-0,37 \acute{o} 0,36	0,97
	BMI-SDS	-0,27	-0,72 \acute{o} 0,19	0,24
	Trizeps-Hautfalten-SDS	0,16	-0,22 \acute{o} 0,53	0,40
	Subscapular-Hautfalten-SDS	0,06	-0,30 \acute{o} 0,42	0,75
	Summe der Hautfalten-SDS	0,12	-0,24 \acute{o} 0,49	0,49
Gesamt	Gewichts-SDS	0,01	-0,23 \acute{o} 0,25	0,92
	BMI-SDS	-0,18	-0,45 \acute{o} 0,10	0,21
	Trizeps-Hautfalten-SDS	-0,06	-0,31 \acute{o} 0,18	0,62
	Subscapular-Hautfalten-SDS	0,15	-0,09 \acute{o} 0,38	0,22
	Summe der Hautfalten-SDS	0,07	-0,14 \acute{o} 0,28	0,49

Werte dargestellt als 95 % Konfidenzintervall (95 % KI), SDS: Standard Deviation Score, BMI: Body-Mass-Index.

Tab. 8.5 Vergleich der anthropometrischen Daten zwischen Mädchen und Jungen der POGO-GDM-Kohorte anhand der gebildeten \check{S} Standard Deviation Scores \check{o} (SDS) der GDM-Daten des KiGGS für Gewicht, Trizeps- und Subscapuläre Hautfalte, sowie für die Summe der Hautfalten

	Mittelwert	95 % KI	p
Gewicht-SDS	-0,03	-0,52 \acute{o} 0,46	0,90
BMI-SDS	-0,15	-0,72 \acute{o} 0,42	0,60
Trizeps-Hautfalten-SDS	0,37	-0,13 \acute{o} 0,86	0,15
Subscapular-Hautfalten-SDS	-0,15	-0,63 \acute{o} 0,33	0,55
Summe der Hautfalten-SDS	0,08	-0,35 \acute{o} 0,51	0,70

Werte dargestellt als 95 % Konfidenzintervall (95 % KI), SDS: Standard Deviation Score, BMI: Body-Mass-Index.

Anhang

Tab. 8.6 Vergleich der anthropometrischen Daten zwischen Vorschul- und Schulkindern der POGO-GDM-Kohorte anhand der gebildeten „Standard Deviation Scores“ (SDS) der Daten des KiGGS für Gewicht, Trizeps- und Subscapuläre Hautfalte, sowie für die Summe der Hautfalten

		Mittelwert	95 % KI	p
Vorschul-	Gewicht-SDS	-0,13	-0,43 ó 0,17	0,38
	BMI-SDS	-0,37	-0,74 ó 0,00	0,05
	Trizeps-Hautfalten-SDS	-0,23	-0,55 ó 0,10	0,17
	Subscapular-Hautfalten-SDS	0,23	-0,09 ó 0,54	0,16
	Summe der Hautfalten-SDS	0,04	-0,23 ó 0,30	0,79
Schulkinder	Gewicht-SDS	0,32	-0,08 ó 0,72	0,12
	BMI-SDS	0,20	-0,19 ó 0,60	0,30
	Trizeps-Hautfalten-SDS	0,29	-0,06 ó 0,64	0,10
	Subscapular-Hautfalten-SDS	0,08	-0,26 ó 0,42	0,63
	Summe der Hautfalten-SDS	0,21	-0,12 ó 0,55	0,20
Gesamt	Gewicht-SDS	-0,45	-0,95 ó 0,05	0,08
	BMI-SDS	-0,58	-1,15 ó 0,00	0,05
	Trizeps-Hautfalten-SDS	-0,51	-1,01 ó -0,02	0,04
	Subscapular-Hautfalten-SDS	0,15	-0,33 ó 0,63	0,55
	Summe der Hautfalten-SDS	-0,18	-0,60 ó 0,25	0,41

Werte dargestellt als 95 % Konfidenzintervall (95 % KI), SDS: Standard Deviation Score, BMI: Body-Mass-Index.

Anhang

Tab. 8.7 Durchschnittliche tägliche Nährstoffaufnahme der POGO-Mütter mit vorangegangenem GDM

Nährstoff- gruppe	Nährstoffe		Median	IQR		
				P25	P75	
Energie	Energie	[kcal]	2062,0	1598,5	2612,4	
Protein	Protein	[g]	81,6	62,8	99,8	
	Protein	[EN %]	16,1	14,5	18,7	
Fett	Fett	[g]	86,6	63,4	109,3	
	Fett	[EN %]	39,5	34,0	44,8	
	Cholesterin	[g]	271,6	205,0	372,8	
Kohlen- hydrate	Kohlenhydrate	[g]	221,9	169,9	300,4	
	Kohlenhydrate	[EN %]	45,5	39,5	50,1	
	Ballaststoffe (BS)	[g]	21,3	14,5	27,9	
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A	[mg]	0,9	0,8	1,3
		Vitamin D	[g]	1,9	1,1	2,9
		Vitamin E	[mg]	10,0	7,9	13,4
		Vitamin K	[g]	248,2	203,8	340,2
		Vitamin C	[mg]	97,4	74,8	125,3
		Vitamin B1	[mg]	1,0	0,8	1,4
		Vitamin B2	[mg]	1,4	1,1	1,9
		Vitamin B3	[mg]	37,5	29,3	45,7
		Vitamin B5	[mg]	4,4	3,4	5,6
		Vitamin B6	[mg]	1,5	1,2	1,9
		Vitamin B7	[g]	48,9	35,4	61,3
		Vitamin B9	[g]	270,9	202,4	366,0
		Vitamin B12	[g]	6,1	4,2	8,1
		Mineralstoffe	Mineralstoffe	Mineralstoffe	[g]	15,4
Calcium	[mg]			787,5	558,5	1077,1
Phosphor	[mg]			1277,0	995,7	1683,0
Magnesium	[mg]			342,8	261,7	414,7
Natrium	[mg]			1662,5	1240,8	2308,6
Chlorid	[mg]			2930,0	2200,2	3678,1
Kalium	[mg]			3531,1	2826,8	4239,2
Eisen	[mg]			12,7	9,9	16,0
Jodid	[g]			109,3	83,7	142,0
Zink	[mg]			11,6	9,1	15,6

Werte dargestellt als MW: Mittelwert, Median und Interquartilsabstand (IQR); EN %: prozentualer Anteil an der Gesamtenergieaufnahme.

Anhang

Tab. 8.8 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme der Mütter mit vorangegangenen GDM der POGO-Studie im prozentualen Vergleich zu den D-A-CH-Referenzwerten

Nährstoffgruppe	Nährstoffe		Median	IQR		% DRW		p*	
				P25	P75	MW	Median		
Energie	Energie	[kcal]	2062,0	1598,5	2612,4	101,4	98,2	0,6022	
Makronährstoffe	Protein	Protein	[g]	81,6	62,8	99,8	136,9	130,6	<0,0018
		Protein	[EN%]	16,1	14,5	18,7	134,7	128,5	<0,0018
	Fett	Fett	[g]	86,6	63,4	109,3			<0,0018
		Fett	[EN%]	39,5	34,0	44,8	130,8	131,7	<0,0018
	Kohlenhydrate	Cholesterin	[mg]	271,6	205,0	372,9	102,7	90,5	0,6356
		Kohlenhydrate	[g]	221,9	169,9	300,4			<0,0018
Kohlenhydrate		[EN%]	45,5	39,5	50,1	78,0	79,2	<0,0018	
	Ballaststoffe	[g]	21,3	14,5	27,9	77,6	70,9	<0,0018	
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A	[mg]	,9	,8	1,3	134,1	116,0	<0,0018
		Vitamin D	[g]	1,9	1,1	2,9	11,5	9,5	<0,0018
		Vitamin E	[mg]	10,0	7,9	13,4	89,3	83,0	<0,0018
		Vitamin K	[g]	248,2	203,8	340,2	498,8	413,7	<0,0018
		Vitamin C	[mg]	97,4	74,8	125,3	106,4	97,4	0,2984
		Vitamin B1	[mg]	1,0	,8	1,4	112,1	102,0	0,0202
		Vitamin B2	[mg]	1,4	1,1	1,9	125,8	117,9	<0,0018
		Vitamin B3	[mg]	37,5	29,3	45,7	302,6	288,2	<0,0018
		Vitamin B5	[mg]	4,4	3,4	5,6	79,1	72,9	<0,0018
		Vitamin B6	[mg]	1,5	1,2	1,9	130,6	122,5	<0,0018
		Vitamin B7	[g]	48,9	35,4	61,3	114,3	108,7	<0,0018
		Vitamin B9	[g]	270,9	202,4	366,0	101,6	90,3	0,4897
	Vitamin B12	[g]	6,1	4,2	8,1	218,3	202,7	<0,0018	
	Mineralstoffe	Calcium	[mg]	787,5	558,5	1077,1	85,7	78,7	<0,0018
		Phosphor	[mg]	1277,0	995,7	1683,0	192,9	182,4	<0,0018
Magnesium		[mg]	342,8	261,7	414,7	117,5	114,3	<0,0018	
Natrium		[mg]	1662,5	1240,8	2308,6	330,0	302,3	<0,0018	
Chlorid		[mg]	2930,0	2200,2	3678,1	366,9	353,0	<0,0018	
Kalium		[mg]	3531,1	2826,8	4239,2	183,7	176,6	<0,0018	
Eisen		[mg]	12,7	9,9	16,0	88,7	84,8	<0,0018	
Jodid		[g]	109,3	83,7	142,0	59,4	54,7	<0,0018	
	Zink	[mg]	11,6	9,1	15,6	181,7	166,1	<0,0018	

*p-Wert für NVS II Vergleich, Bonferroni korrigiert p<0,0018, Werte dargestellt als MW: Mittelwert, Median und Interquartilsabstand (IQR); EN %: prozentualer Anteil an der Gesamtenergieaufnahme; % DRW: prozentual erreichter Anteil der D-A-CH-Referenzwerte.

Anhang

Tab. 8.9 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme der Frauen der Nationalen Verzehrsstudie II im Alter von 25 bis 50 Jahren (NVS II, 2008c)

Nährstoff- gruppe	Nährstoffe		NVS II Vergleichswerte				
			MW	Median	IQR		
					P25	P75	
Energie	Energie	[kcal]	1989,5	1899,5	1565,5	2321,0	
Makro- nährstoffe	Protein	[g]	69,25	66,55	54,9	80,4	
	Fett	[g]	76,7	71,0	54,9	93,1	
		Cholesterin	[mg]	285	265,5	198,5	345,5
	Khe	Kohlenhydrate	[g]	241,1	228,3	183,5	285,1
		Ballaststoffe (BS)	[g]	24,4	22,7	17,7	29,3
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A	[mg]	1,9	1,6	1,15	2,25
		Vitamin D	[g]	2,7	2,1	1,4	3,15
		Vitamin E	[mg]	13,7	12,3	9,2	16,3
		Vitamin C	[mg]	151,0	130,5	91,5	186,5
		Vitamin B1	[mg]	1,4	1,3	0,9	1,7
		Vitamin B2	[mg]	1,8	1,6	1,2	2,1
		Vitamin B3	[mg]	30,0	27,8	22,4	34,4
		Vitamin B6	[mg]	2,1	1,9	1,5	2,5
		Vitamin B9	[g]	298,0	256,5	198,5	343,5
		Vitamin B12	[g]	4,4	3,9	2,9	5,3
	Mineralstoffe	Calcium	[mg]	1064,1	1008,0	796,5	1263,0
		Magnesium	[mg]	383,0	372,0	304,0	444,0
		Natrium	[mg]	2556,0	2427,0	1956,5	2984,5
		Kalium	[mg]	3295,5	3155,5	2603,5	3855,5
		Eisen	[mg]	12,7	12,3	9,9	14,8
		Jodid	[g]	100,0	92,5	71,0	120,0
		Zink	[mg]	9,8	9,5	7,7	11,5

Werte dargestellt als MW: Mittelwert, Median und Interquartilsabstand (IQR); Khe: Kohlenhydrate; n=3666.

Anhang

Tab. 8.10 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme bei Müttern mit vorangegangenem GDM als prozentual erreichter Anteil der D-A-CH-Referenzwerte unterteilt nach dem postpartalen T2D-Risiko

		Niedrigrisikogruppe (n=65)					Hochrisikogruppe (n=39)				p*
Nährstoffgruppe	Nährstoffe	Median	IQR		% DRW	Median	IQR		% DRW		
			P25	P75	Median		P25	P75	Median		
Energie		Energie [kcal]	2105,6	1607,8	2647,0	100,3	1915,4	1599,1	2604,9	91,2	0,454
Makro-nährstoffe	Protein	Protein [g]	78,6	62,3	100,5	127,7	84,7	63,7	99,0	138,7	0,027
	Fett	Fett [g]	85,8	64,7	108,1	122,6	88,3	62,7	114,0	130,7	0,027
	Khe	Kohlenhydrate [g]	224,2	185,3	327,1	83,2	202,8	133,2	279,7	78,1	0,009
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A [mg]	1,0	0,8	1,3	119,4	0,9	0,8	1,3	113,0	0,690
		Vitamin D [g]	1,9	1,0	3,1	9,3	2,1	1,3	2,9	10,3	0,543
		Vitamin E [mg]	9,7	7,6	13,7	80,8	9,9	7,9	12,7	82,8	0,822
		Vitamin K [g]	253,8	201,0	339,6	423,1	244,6	220,1	351,7	407,6	0,719
		Vitamin C [mg]	98,3	76,1	128,4	98,3	95,6	73,6	122,3	95,6	0,374
		Vitamin B1 [mg]	1,0	0,8	1,4	104,0	1,0	0,8	1,3	101,0	0,763
		Vitamin B3 [mg]	37,1	29,0	45,8	285,3	38,5	30,7	45,5	295,8	0,430
		Vitamin B6 [mg]	1,5	1,2	1,9	124,2	1,4	1,2	1,8	118,3	0,941
		Vitamin B12 [g]	5,9	3,8	7,8	195,3	6,1	4,4	8,3	204,0	0,415
	Mineralstoffe	Calcium [mg]	791,6	555,9	1127,1	79,2	803,3	574,0	1029,1	80,3	0,938
		Magnesium [mg]	352,1	270,9	416,3	117,4	339,1	257,5	401,5	113,0	0,575
		Natrium [mg]	1657,9	1247,6	2341,4	301,4	1693,0	1242,0	2302,4	307,8	0,987
		Kalium [mg]	3533,5	2825,2	4273,2	176,7	3481,7	2828,1	4210,3	174,1	0,917
		Jodid [g]	107,3	80,9	156,7	53,6	109,3	84,1	132,0	54,7	0,997
	Zink [mg]	11,2	8,9	15,6	160,6	11,8	9,6	15,2	167,9	0,699	

*p-Wert für NVS II Vergleich, Bonferroni korrigiert $p < 0,0018$, Werte dargestellt als MW: Mittelwert, Median und Interquartilsabstand (IQR); EN %: prozentualer Anteil an der Gesamtenergieaufnahme; % DRW: prozentual erreichter Anteil der D-A-CH-Referenzwerte, Khe: Kohlenhydrate.

Anhang

Tab. 8.11 Durchschnittliche tägliche Energie- und Nährstoffaufnahme bei den Müttern mit vorangegangenem GDM in Abhängigkeit vom sozioökonomischen Schichtindex

		Unterschicht/ Mittelschicht* (n=34)					Oberschicht (n=70)					p**
Nährstoffgruppe	Nährstoffe	Median	IQR		% DRW	Median	IQR		% DRW			
			P25	P75	Median		P25	P75	Median			
Energie	Energie [kcal]	1948,4	1558,5	2485,3	92,8	2072,1	1623,2	2754,3	98,7	0,201		
Makro-nährstoffe	Protein [g]	85,9	62,3	97,4	142,7	79,1	63,7	101,6	126,3	0,036		
	Fett [g]	82,2	59,9	100,7	125,2	89,4	65,9	110,1	128,6	0,949		
	Khe [g]	211,0	155,2	272,1	79,5	224,2	173,1	321,0	82,0	0,414		
Mikronährstoffe	Vitamine	Vitamin A [mg]	0,9	0,7	1,2	114,2	0,9	0,8	1,3	118,3	0,570	
		Vitamin D [g]	1,4	,8	2,6	7,1	2,0	1,4	3,3	10,2	0,039	
		Vitamin E [mg]	9,4	8,1	10,8	78,3	10,7	7,7	14,4	89,3	0,129	
		Vitamin K [g]	244,6	197,3	312,2	407,6	251,9	214,2	352,2	419,9	0,566	
		Vitamin C [mg]	94,7	73,7	123,9	94,7	97,5	75,0	128,8	97,5	0,474	
		Vitamin B1 [mg]	,9	,8	1,3	93,0	1,1	,8	1,4	105,0	0,118	
		Vitamin B3 [mg]	38,0	30,4	45,1	292,2	37,0	29,2	45,8	284,5	0,801	
		Vitamin B6 [mg]	1,5	1,1	1,7	123,3	1,5	1,2	1,9	121,7	0,768	
		Vitamin B12 [g]	6,5	4,6	8,5	215,0	5,5	3,9	7,8	182,0	0,249	
		Calcium [mg]	702,7	529,5	926,4	70,3	803,7	581,9	1197,2	80,4	0,161	
		Magnesium [mg]	307,1	255,3	401,5	102,4	352,1	270,5	414,7	117,4	0,312	
		Natrium [mg]	1609,0	1162,0	2256,7	292,5	1693,0	1289,2	2327,4	307,8	0,446	
		Kalium [mg]	3220,7	2714,4	4183,2	161,0	3538,6	2917,7	4313,7	176,9	0,411	
		Jodid [g]	109,3	80,7	126,5	54,7	109,3	84,9	155,6	54,7	0,225	
Zink [mg]	12,7	8,9	16,1	181,0	11,1	9,1	15,5	158,7	0,621			

*Aufgrund der geringen Anzahl in der Gruppe Unterschicht, wurden die Gruppen Unterschicht und Mittelschicht zusammengefasst.

**p-Wert für % DRW der beiden Gruppen, berechnet nach Bonferroni korrigiert $p < 0,0026$, Werte dargestellt als MW: Mittelwert, Median und Interquartilsabstand (IQR); % DRW: prozentual erreichter Anteil der D-A-CH-Referenzwerte, Khe: Kohlenhydrate.

Anhang

Tab. 8.12 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom Alter (< 5 Jahre und × 5 Jahre)

Taxa	< 5 Jahre n=9	× 5 Jahre n=21	p	P _{adjustiert}
Phylum				
Proteobacteria	1,81	1,32	0,11	0,55
Synergistetes	0,04	0,24	0,19	0,55
Actinobacteria	2,55	3,00	0,28	0,55
Verrucomicrobia	0,93	0,82	0,84	0,96
Bacteroidetes	48,25	48,73	0,93	0,96
Firmicutes	46,42	45,89	0,96	0,96
Gattung				
Ethanoligenens	0,00	0,26	0,07	0,60
Streptococcus	0,36	0,17	0,07	0,96
Phascolarctobacterium	0,50	1,46	0,11	0,96
Subdoligranulum	2,28	0,88	0,12	0,96
Pseudoflavonifractor	0,51	0,21	0,18	0,96
Veillonella	0,08	0,02	0,19	0,96
Ignavigranum	0,00	0,09	0,15	0,96
Megamonas	0,10	0,00	0,18	0,96
Thermovirga	0,15	0,00	0,47	0,98
Peptococcus	0,00	0,058	0,94	1,00

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert.

Anhang

Tab. 8.13 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom Geschlecht

Taxa	Jungen n=9	Mädchen n=21	p	P _{adjustiert}
Phylum				
Proteobacteria	1,61	1,12	0,25	0,74
Bacteroidetes	46,28	53,98	0,21	0,74
Synergistetes	0,22	0,08	0,72	0,89
Firmicutes	48,09	41,28	0,42	0,84
Actinobacteria	2,89	2,81	0,80	0,89
Verrucomicrobia	0,91	0,73	0,89	0,89
Gattung				
Escherichia Shigella	0,37	0,01	0,002	0,16
Megamonas	0,01	0,21	0,039	0,88
Erysipelotrichaceae incertae sedis	0,38	0,10	0,058	0,88
Phascolarctobacterium	0,64	1,13	0,073	0,88
Fingoldia	0,01	0,01	0,073	0,88
Streptococcus	0,36	0,17	0,094	0,88
Maritalea	0,07	0,04	0,099	0,88
Coprobacillus	0,05	0,01	0,160	0,88
Parvularcula	0,05	0,00	0,180	0,88
Haemophilus	0,02	0,05	0,240	0,88

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert.

Anhang

Tab. 8.14 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom Geburtsmodus

Taxa	Sectio n=11	Keine Sectio n=19	p	Padjustiert
Phylum				
Actinobacteria	1,99	3,38	0,047	0,279
Bacteroidetes	52,90	46,09	0,250	0,461
Firmicutes	42,50	48,10	0,268	0,461
Verrucomicrobia	1,05	0,74	0,307	0,461
Proteobacteria	1,46	1,47	0,525	0,630
Synergistetes	0,10	0,22	0,727	0,727
Gattung				
Butyrivibrio	0,00	0,03	0,016	0,85
Bifidobacterium	1,81	3,24	0,041	0,85
Anaerotruncus	0,06	0,30	0,043	0,85
Collinsella	0,07	0,03	0,061	0,85
Desmospora	0,03	0,00	0,066	0,85
Odoribacter	0,48	0,22	0,081	0,85
Acetivibrio	0,05	0,10	0,089	0,85
Phascolarctobacterium	0,34	1,05	0,110	0,85
Megamonas	0,00	0,11	0,120	0,85
Blautia	3,15	4,61	0,120	0,85

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert.

Anhang

Tab. 8.15 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am mütterlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom BMI der Mutter (adipös und nicht-adipös)

Taxa	Adipös (MW %-Anteil) n=8	Nicht-adipös (MW %-Anteil) n=17	p	p _{adjustiert}
Phylum				
Verrucomicrobia	0,15	2,43	0,01	0,045
Proteobacteria	8,09	2,79	0,11	0,35
Lentisphaerae	0,03	0,03	0,28	0,35
Synergistetes	0,26	1,30	0,3	0,35
Firmicutes	45,59	52,61	0,22	0,35
Actinobacteria	2,06	1,53	0,27	0,35
Bacteroidetes	43,83	39,32	0,37	0,37
Gattung				
Lactobacillus	0,145	0,000	0,000	0,02
Akkermansia	0,148	2,427	0,003	0,14
Pseudoflavonifractor	0,162	0,983	0,006	0,21
Oscillibacter	1,951	7,566	0,018	0,30
Clostridium XI	2,217	0,910	0,020	0,30
Megasphaera	0,313	0,000	0,020	0,30
Misuokella	0,129	0,000	0,020	0,30
Ruminococcus	3,005	2,299	0,023	0,30
Clostridium XIVb	0,088	0,215	0,026	0,30
Bacteroides	19,863	22,800	0,840	0,97

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert.

Anhang

Tab. 8.16 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am Darm-Mikrobiom bei Kindern von Müttern der T2D-Hoch- und Niedrigrisikogruppe

Taxa	Niedrigrisikogruppe (MW %-Anteil) n=11	Hochrisikogruppe (MW %-Anteil) n=14	p	p _{adjustiert}
Phylum				
Synergistetes	0,15	0,06	0,07	0,42
Proteobacteria	1,73	1,12	0,33	0,63
Firmicutes	50,95	45,03	0,43	0,63
Bacteroidetes	44,41	49,05	0,58	0,63
Actinobacteria	2,30	3,74	0,62	0,63
Verrucomicrobia	0,46	1,00	0,63	0,63
Gattung				
Pseudoflavonifractor	0,31	0,64	0,007	0,57
Turicibacter	0,07	0,22	0,02	0,63
Parabacteroides	1,92	4,72	0,04	0,75
Oscillibacter	5,43	2,05	0,06	0,75
Coprobacillus	0,02	0,02	0,07	0,75
Desmospora	0,00	0,04	0,09	0,75
Caenispirillum	0,07	0,00	0,09	0,75
Lachnospiracea incertae sedis	10,08	6,12	0,10	0,75
unclassified	1,26	2,00	0,10	0,75
Clostridium XIVa	2,29	1,60	0,11	0,75

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert.

Anhang

Tab. 8.17 Prozentualer Anteil der Bakterien-Phyla und -Gattungen am kindlichen Darm-Mikrobiom in Abhängigkeit vom maternalen BMI (Mutter adipös und Mutter nicht-adipös)

Taxa	Mutter adipös (MW %-Anteil) n=8	Mutter nicht-adipös (MW %-Anteil) n=17	p	p _{adjustiert}
Phylum				
Actinobacteria	2,44	4,04	0,071	0,43
Verrucomicrobia	0,65	1,42	0,16	0,47
Bacteroidetes	49,66	45,64	0,61	0,92
Synergistetes	0,13	0,31	0,65	0,92
Firmicutes	45,63	47,18	0,77	0,92
Proteobacteria	1,49	1,40	0,93	0,93
Gattung				
Clostridium XIVa	2,139	1,116	0,01	0,55
Coprobacillus	0,016	0,087	0,07	0,99
Turicibacter	0,079	0,205	0,07	0,99
Clostridium XI	1,420	3,687	0,07	0,99
Streptococcus	0,223	0,531	0,08	0,99
Bifidobacterium	2,320	3,811	0,08	0,99
unclassified	1,321	1,777	0,11	0,99
Akkermansia	0,650	1,423	0,18	0,99
Eubacterium	0,088	0,111	0,22	0,99
Desulfovibrio	0,000	0,070	0,69	0,99

Werte dargestellt als Mittelwerte (MW) vom prozentualen Anteil der Bakterien am Darm-Mikrobiom (Phylum und Gattung) mit den 10 niedrigsten p-Werten aufsteigend sortiert, p-Werte für multiples Testen adjustiert.

Studienmaterial

Anhang 1 Faeces-Probenentnahme-Protokoll

Forschergruppe Diabetes e.V.
am Helmholtz Zentrum München
Leitung: Univ.-Prof. Dr. med. Anette-Gabriele Ziegler



Forschergruppe Diabetes e. V. am Helmholtz Zentrum München
Ingolstädter Landstraße 1, 85764 Neuherberg

Die POGO Studie

Briefanschrift: Kölner Platz 1, 80804 München
Telefon: +49 (89) 3187-3548
Telefax: +49 (89) 3187-3144
E-Mail: michaela.rossbauer@lrz.uni-muenchen.
Ansprechpart.: MSc Michaela Roßbauer

Stuhlprobe

Name:

Eingang Labor: ____ . ____ . ____

Vorname:

Eingetragen um: ____ : ____ Uhr

Geburtsdatum:

Datum der Stuhlprobe: ____ . ____ . ____

Uhrzeit: ____ : ____ Uhr

Bitte fassen Sie den Stuhlfänger zum Sammeln der Stuhlprobe nur an den äußeren Enden an, nicht in der Mitte des Papiers!
Das Stuhlröhrchen soll **maximal bis zur Hälfte gefüllt** sein.



Bitte schicken Sie die Stuhlprobe in dem dafür vorgesehenen Röhrchen mit diesem Datenblatt umgehend nach der Probenentnahme, zusammen mit dem Ernährungsprotokoll und dem Fotobuch Ihres Kindes mit der Post an uns zurück.

Ein frankierten Umschlag mit unserer Adresse wird Ihnen zur Verfügung gestellt.
Bitte schicken Sie die Stuhlprobe mit den anderen Unterlagen möglichst direkt nach der Probenentnahme **von Montag bis Mittwoch** an uns zurück.

Mo	Di	Mi	Do	Fr	Sa	So

Bei Fragen stehen wir Ihnen unter 089/ 3187 – 3548 zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen,

POGO-Team



Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Anette-G. Ziegler (Vorsitzende), PD Dr. med. Michael Hummel (Geschäftsführender Vorstand)
Prof. Dr. med. Oliver Schnell (Geschäftsführender Vorstand)
Bankverbindung: 46 532 171 Bayerische Hypo- und Vereinsbank AG München (BLZ 700 202 70)
Anschrift: Forschergruppe Diabetes e.V. am Helmholtz Zentrum München • Ingolstädter Landstr. 1 • 85764 Neuherberg
• Telefon (089)3187-2971 o. -3173 • Telefax (089)3081733

Anhang 2 Medikamenten-Protokoll

Protokoll Erkrankungen und Medikamente (bezieht sich auf die letzten 6 Monate)

Waren Sie in den letzten 6 Monaten **krank**? Wenn ja, dann tragen Sie bitte Ihre Erkrankung mit dem Zeitraum dazu in die folgende Tabelle ein.
(z.B. Magen-Darm-Infektion, Grippe mit Fieber...)



Symptomatik/Ereignis/ Erkrankung	Datum der Erkrankung		Noch aktuell?	
	Beginn	Ende	Ja	Nein
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



Medikamente (letzten 6 Monate)

Haben Sie in den letzten 6 Monaten **Medikamente** eingenommen (z.B. Antibiotika, Cortison, ect.)? Wenn ja, dann tragen Sie bitte diese mit Zeitraum in die folgende Tabelle ein.

Medikamente (genaue Bezeichnung)	Gesamt-Dosis pro Tag	Datum der Medikamenteneinnahme		fortdauernd
		Beginn	Ende	
				<input type="checkbox"/>

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

FFQ 85

Wie häufig haben Sie die folgenden Lebensmittel in den letzten 4 Wochen verzehrt?										
Bitte, schwärzen Sie das Oval der am besten zutreffenden Angabe vollständig.										
Bitte, geben Sie durch Schwärzen des entsprechenden Ovals zusätzlich an, ob Ihre verzehrten Portionen eher klein (K), mittel (M) oder groß (G) waren.										
E	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehrs						Portionsgrößen		
		Nie oder ganz selten (1)	ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel
1	Fleisch	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Geflügel	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	Fisch	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	Fischkonserven	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Krusten-/Schalen-/Weichtiere/Krabben	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	Eier (inkl. in Speisen verarbeitete)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	Wurst/Wurstwaren/ Würstchen z.B. Corned Beef, Geflügelaufschnitt, fettreduzierte Wurstsorten	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E	Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehrs						Portionsgrößen		
			Nie oder ganz selten (1)	ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel
8		Wurst/ Wurstwaren/ Würstchen z.B. Fleisch-, Tee-, Leber-, Blut-, Mettwurst, Salami	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9		Schinken/ Fleischaufschnitt ohne sichtbares Fett	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10		Schinken/ Fleischaufschnitt mit sichtbarem Fett	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11		Käse z.B. Harzer, Mainzer, Handkäse, Lämburger, Romadur, fettreduzierte Käsesorten	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12		Käse z.B. Gouda, Edamer, Tilsiter, Butter-, Bergkäse, Camembert, Mozzarella, Rahmkäse	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13		Fettreduzierte Milch/ Joghurt/ Kefir/ Dickmilch (bis 1,5% Fett)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14		Milch/ Joghurt/ Kefir/ Dickmilch (über 1,5% Fett)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15		Magerer oder < 10% Fett Quark	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16		>10% Fett Quark	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehr						Portions- größen			
		Nie oder ganz selten (1)	ganz pro Monat (2)	1-3x pro Woche (3)	1-2x pro Woche (4)	3-6x pro Woche (5)	1x pro Tag (6)	Mehr- mals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
17	Buttermilch	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	Sahne/ Kaffeesahne/ Creme fraîche/ Schmand	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19	Milcheis/ Sahneeis	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20	Schokolade/ Pralinen/ Schokoriegel	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	Cremekuchen/ Torte/ Sahnekuchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
22	Rührkuchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	Hefekuchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Croissant	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25	Blätterteiggebäck/ Pasteten	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehr						Portions- größen			
		Nie oder ganz selten (1)	ganz pro Monat (2)	1-3x pro Woche (3)	1-2x pro Woche (4)	3-6x pro Woche (5)	1x pro Tag (6)	Mehr- mals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
26	Pfannkuchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
27	Kekse	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
28	Gefüllte Kekse (Schokolade oder Creme)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29	Nüsse/ Samen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	Chips/ Flips/ gesalzenes Gebäck	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31	Butter/ Butterschmalz	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
32	Halbfett-Butter	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33	Margarine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34	Halbfett- Margarine	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehrs						Portions- größen		
		Nie oder ganz selten (1)	ganz 1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
35	Öl	0	0	0	0	0	0	0	0	0
36	Plattenfette (z.B. Palmin), Speck	0	0	0	0	0	0	0	0	0
37	Hamburger/ Hot dog/Cheeseburger /Pizza/ Fast Food	0	0	0	0	0	0	0	0	0
38	Suppe (klare oder gebundene)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
39	Eintopf	0	0	0	0	0	0	0	0	0
40	Soße	0	0	0	0	0	0	0	0	0
41	Frisches Obst	0	0	0	0	0	0	0	0	0
42	Rote Grütze/ Kompott	0	0	0	0	0	0	0	0	0
43	Trockenfrüchte	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehrs						Portions- größen		
		Nie oder ganz selten (1)	ganz 1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
44	Konfitüre/ Marmelade/ Honig	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	Zucker	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	Fruchteis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
47	Fruchtgummis	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	Bonbons	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	Gemüse (gegart)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50	Salat, Gemüse (roh)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
51	Kräuter	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	Hülsenfrüchte	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehrs						Portions- größen		
		Nie oder ganz ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
53	Pellkartoffeln	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	Salzkartoffeln	0	0	0	0	0	0	0	0	0
55	Kartoffelpüree	0	0	0	0	0	0	0	0	0
56	Kartoffelklöße	0	0	0	0	0	0	0	0	0
57	Kroketten	0	0	0	0	0	0	0	0	0
58	Bratkartoffeln	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	Pommes	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	Reibekuchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	Reis, gegart (weiß oder andere unspezifische Sorten)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehrs						Portions- größen		
		Nie oder ganz ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
62	Reis, gegart (Vollkorn/ Natur-, Basmati, Parboiled Reis)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
63	Nudeln (Hartweizengrieß/ Pasta, Vollkorn)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
64	Nudeln (Eiernudeln)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
65	Weißbrot/ Toastbrot/ Brötchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0
66	Misch-/ Graubrot	0	0	0	0	0	0	0	0	0
67	Vollkornbrot/ -brötchen/ Mehrkornbrot	0	0	0	0	0	0	0	0	0
68	Knäckebrötchen	0	0	0	0	0	0	0	0	0
69	Frühstücksflocken (Cornflakes, Müsli usw.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

Wie häufig haben Sie die folgenden Getränke in den letzten 4 Wochen konsumiert?

Bitte, schwärzen Sie das Oval der am besten zutreffenden Angabe vollständig.

Bitte, geben Sie durch Schwärzen des entsprechenden Ovals zusätzlich an, ob Ihre verzehrten Portionen eher klein (K), mittel (M) oder groß (G) waren.

E Nr.	Getränk	Häufigkeiten des Verzehrs						Portions- größen		
		Nie oder ganz ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
70	Wasser/ Mineralwasser	0	0	0	0	0	0	0	0	0
71	Kaffee	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	Schwarzen/ grünen Tee	0	0	0	0	0	0	0	0	0
73	Kräuter-/ Früchtetee	0	0	0	0	0	0	0	0	0
74	(Heiße) Schokolade/ Kakao	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	Obstsaft, ungesüßt	0	0	0	0	0	0	0	0	0
76	Saftschorle	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

E Nr.	Getränk	Häufigkeiten des Verzehrs						Portions- größen		
		Nie oder ganz ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
77	Obstnektar/ Fruchtsaftgetränke	0	0	0	0	0	0	0	0	0
78	Gemüsesaft/- nektar	0	0	0	0	0	0	0	0	0
79	Limonade/ Cola	0	0	0	0	0	0	0	0	0
80	Light-Limonaden/ Cola light	0	0	0	0	0	0	0	0	0
81	Bier	0	0	0	0	0	0	0	0	0
82	Alkoholfreies Bier	0	0	0	0	0	0	0	0	0
83	Wein/ Sekt	0	0	0	0	0	0	0	0	0
84	Likör	0	0	0	0	0	0	0	0	0
85	Spirituosen (z.B. Schnaps, Cognac, Whisky)	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Falls Sie Lebensmittel verzehrt haben, nach denen bisher nicht gefragt wurde, tragen Sie diese in die freie Rubrik ein und geben Sie die Häufigkeit des Verzehr sowie die Portionsangabe durch Schwärzen der entsprechenden Ovale an.										
E Nr.	Lebensmittel	Häufigkeiten des Verzehr						Portions- größen		
		Nie oder ganz ganz selten (1)	1-3x pro Monat (2)	1-2x pro Woche (3)	3-6x pro Woche (4)	1x pro Tag (5)	Mehrmals pro Tag (6)	klein	mittel	groß
86		0	0	0	0	0	0	0	0	0
87		0	0	0	0	0	0	0	0	0
88		0	0	0	0	0	0	0	0	0
89		0	0	0	0	0	0	0	0	0
90		0	0	0	0	0	0	0	0	0
91		0	0	0	0	0	0	0	0	0
92		0	0	0	0	0	0	0	0	0

SPEZIELLE FRAGEN ZUM ESSEN UND TRINKEN

93. Nehmen Sie Mineralstoffpräparate (z.B. Magnesium, Calcium, Selen) ein?	Ja	Nein
	0	0
Wenn ja, welche?	_____	
94. Nehmen Sie Vitaminpräparate ein?	Ja	Nein
	0	0
Wenn ja, welche?	_____	
95. Nehmen Sie Mischpräparate von Mineralstoffen und Vitaminen ein?	Ja	Nein
	0	0
Wenn ja, welche?	_____	
96. Benutzen Sie kalorienfreie Süßstoffe (flüssig oder als Tabletten, z.B. Aspartam, Cyclamat, Saccharin)?	Ja	Nein
	0	0
Wenn ja, welche?	_____	
97. Verwenden Sie kalorienhaltige Zuckeraustauschstoffe (Fruchtzucker, Maltit, Isomalt, Sorbit u.a.)?	Ja	Nein
	0	0
Wenn ja, welche?	_____	
98. Verwenden Sie spezielle Diätprodukte?	Ja	Nein
	0	0
Wenn ja, welche?	_____	

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

99. Verwenden Sie fettreduzierte Lebensmittel / Produkte (Light-Produkte)?

Ja Nein

0 0

Wenn ja, welche?

100. Haben Sie in den letzten 4 Wochen irgendetwas Spezielles in Ihrer Nahrungsaufnahme geändert?

Ja Nein

0 0

Wenn ja, was?

101. Gibt es Lebensmittel, die Sie auf keinen Fall essen/trinken würden?

Ja Nein

0 0

Wenn ja, welche?

102. Haben Sie eine Lieblingspeise / ein Lieblingsgetränk?

Ja Nein

0 0

Wenn ja, welche / welches?

103. Wie oft essen Sie in der Regel pro Tag?

Weniger als 3x/Tag 3-5x/Tag Mehr als 5x/Tag

0 0 0

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

104. Haben Sie in den letzten 4 Wochen an Gewicht abgenommen?

Ja Nein

0 0

105. Wenn ja, wie viele Kilo?

[]/[]

Anhang

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

106. Welche Öle verwenden Sie in der Regel bevorzugt?
(Bis zu 3 Antwortmöglichkeiten)

- | | |
|-------------------|---|
| a. Kein Öl | 0 |
| b. Distelöl | 0 |
| c. Erdnussöl | 0 |
| d. Keimöl | 0 |
| e. Olivenöl | 0 |
| f. Rapsöl | 0 |
| g. Sojaöl | 0 |
| h. Sonnenblumenöl | 0 |
| i. Anderes | 0 |

Wenn anderes, welches? _____

107. Welche Nüsse verzehren Sie in der Regel bevorzugt?
(Bis zu 3 Antwortmöglichkeiten)

- | | |
|----------------|---|
| a. Keine Nüsse | 0 |
| b. Cashewnüsse | 0 |
| c. Erdnüsse | 0 |
| d. Haselnüsse | 0 |
| e. Walnüsse | 0 |
| f. Andere | 0 |

Wenn andere, welche? _____

17

© Toeller M. 3.3.2010, UKD / HHU Düsseldorf

ID-Nummer [][][][][]



V2 02/2013

108. Welche Fischarten verzehren Sie in der Regel bevorzugt?
(Bis zu 3 Antwortmöglichkeiten)

- | | |
|---------------|---|
| a. Kein Fisch | 0 |
| b. Forelle | 0 |
| c. Hering | 0 |
| d. Karpfen | 0 |
| e. Makrele | 0 |
| f. Rotbarsch | 0 |
| g. Seelachs | 0 |
| h. Thunfisch | 0 |
| i. Zander | 0 |
| j. Andere | 0 |

Wenn andere, welche? _____

109. Welche Margarinesorten verzehren Sie in der Regel bevorzugt?
(Bis zu 3 Antwortmöglichkeiten)

- | | | |
|---|---|-------------------------------------|
| a. Keine Margarine | 0 | |
| b. Harte Margarine * | 0 | * gekühlt nicht sofort streichfähig |
| c. Weiche Margarine ** | 0 | ** gekühlt sofort streichfähig |
| d. Margarine mit ungesättigten Fettsäuren | 0 | |
| e. Margarine mit Olivenöl | 0 | |
| f. Diätmargarine | 0 | |
| g. Andere | 0 | |

Wenn andere, welche? _____

18

© Toeller M. 3.3.2010, UKD / HHU Düsseldorf

Anhang 4 3-Tage-Ernährungstagebuch



3-Tage-Ernährungstagebuch

am _____ / _____ / _____ 2011

(Daten der 3 Protokolltage)

Probanden-Nummer:

Nach Abschluss des Tagebuchs bitte Rückseite ausfüllen.

Liebe Kinder,
vielen Dank, dass ihr bei POGO mitmacht. Damit alles gut klappt, bitten wir euch zusammen mit euren Eltern die folgenden Hinweise gut durchzulesen.
Eure Mitarbeit ist wichtig, damit alles, was ihr esst und trinkt, vollständig und richtig aufgeschrieben wird!



Liebe Eltern,
herzlichen Dank, dass Sie sich bereit erklärt haben, das Ernährungstagebuch für Ihre Tochter / Ihren Sohn drei Tage lang sorgfältig zu führen. Das Ziel dieser Verzehrerhebung ist es herauszufinden, was Kinder **tatsächlich** essen und trinken. Deshalb bitten wir Sie alles aufzuschreiben (auch den Schokoriegel und das Glas Wasser zwischendurch) und an diesen Tagen genauso wie immer zu essen und zu trinken.
Bevor Sie beginnen, lesen Sie bitte unsere **Hinweise** und **Hilfestellungen** auf den nächsten Seiten. Wenn Sie dazu Fragen haben, stehen wir Ihnen gerne unter folgender Telefonnummer zur Verfügung: ☎ **089-3187-3548**

Wichtige Hinweise

- Essen und trinken Sie und Ihr Kind bitte an diesen 3 Tagen genauso wie immer!
- Vermerken Sie bitte jeweils **Wochentag, Uhrzeit und Ort** des Verzehrs im Protokoll. 
- Tragen Sie im Tagesverlauf **alle** verzehrten **Lebensmittel und Getränke** während oder **unmittelbar nach dem Essen und Trinken** in das Ernährungstagebuch ein. Auch Süßigkeiten und Leitungswasser gehören dazu!
- Beschreiben Sie alle Lebensmittel und Getränke möglichst genau. Wichtige Informationen sind: **Produktbezeichnung** und **Markenname** wie auf der Verpackung angeben, **Zustand** und **Art der Verpackung** des Lebensmittels beim Einkauf sowie **Zubereitungsart**. Weitere Erläuterungen dazu finden Sie unter „Hinweise zur Lebensmittelbeschreibung von A – Z“.
- Zur Angabe der **verzehrten Menge** verwenden Sie bitte haushaltsübliche Maße oder das beiliegende Fotobuch, um Portionsgrößen abzuschätzen. Genaueres entnehmen Sie bitte der „Übersicht über Mengenangaben“. 
- Versorgt sich Ihr Kind bereits selbst mit Lebensmitteln (z. B. mit Obst, Süßigkeiten, Milch) oder isst und trinkt es auswärts bzw. unterwegs? Dann vereinbaren Sie bitte mit ihm, dass es Ihnen dieses mitteilt, so dass Sie das Protokollheft so genau wie möglich führen können.
- Vergessen Sie bitte nicht die Fragen auf der Rückseite des Ernährungstagebuchs zu beantworten.

Übersicht über Mengenangaben

- Verzehnte Mengen geben Sie bitte in den üblichen **Haushaltsmaßen** an. Die Abkürzungen finden Sie auf der ausklappbaren letzten Seite des Tagbuchs.
z. B.: 1 kleine Tasse (1 kl Ta), 2 gestrichene Teelöffel (2 gestr TL), ½ Stück (½ St)
- Zur Angabe von **Portionsgrößen** können Sie auch das **Fotobuch** zu Hilfe nehmen. Dazu suchen Sie das Lebensmittel / die Speise im Fotobuch, wählen das Bild aus, das der verzehrten Menge am besten entspricht und notieren dann die Nummer der Abbildung im Tagebuch.
z. B. 1 kleines Stück Hartkäse: Bild 32-1
½ mitteldicke Scheibe Toastbrot: ½ mal Bild PD58 E
2 große Portionen Trauben (oder Kirschen): 2 mal Bild 92-4 (oder 93-4)
- Häufig sind **Mengenangaben auf der Verpackung** angegeben und können dort abgelesen werden (z. B. auf kleinen Getränkepackungen, Schokoriegeln, Speiseeis, Milchfertigprodukten). Bitte geben Sie die Menge nur in Gramm oder Milliliter an, wenn Sie das Gewicht bzw. Volumen genau kennen (Verpackungsangabe) oder es ausgemessen haben (z. B. mit Litermaß).

Eine Übersicht über alle Angaben zu verzehrten Mengen, Zustand und Verpackung beim Einkauf und Zubereitungsart findet sich auf der ausklappbaren letzten Seite des Tagbuchs.

Ernährungstagebuch Beispiel Wochentag: **Mo Di Mi Do Fr Sa So**
(bitte ankreuzen)

beim Verzehr		Verzehre Menge	Lebensmittel und Getränke (Produkt-/Markenbezeichnung, Anreicherung mit Vitaminen und Mineralstoffen, Fettgehalt)	beim Einkauf		Zubereitung (geschält, gegart, ...)
Uhrzeit	Ort			Zu-stand	Verpa-ckung	
7.15	H	1 Be	Früchtetee Multivitamin, Teekanne	getr	K	gek
		1 kl Scha	H-Milch, 1,5% Fett	-	V	-
		6 EL geh	+ Kellogg's Smacks	-	K+P	-
9.30	S	Bild M	Apfel, Elstar	fr	K	gesch
		250 ml	Gatorade Citrus mit Na, Cl, K, Mg	-	K	-
		1 St	Weißbrötchen mit Mohn, Harry	tk	K	geb
		1 Sch	+ Bärchenwurst mit Calcium, Reinert	gek	K	-
13.00	H	½ Bild 1-2	Kartoffeln	fr	K	gesch, gek
		Bild 47-2	Frikadelle*	-	-	gebr
		2 EL geh	Erbsen + Möhren, Bonduelle	kons	M	gek
		1 Ta	stilles Mineralwasser, Steinsieker	-	G	-
		50 g	Kaktus Eis, Schöller	tk	K	-
15.30	F	7 St	Haribo Goldbären	-	K	-
		1 St	Waffel, Rührteig, selbstgebacken	-	-	geb
		2 Be	Apfelschorle (Mineralwasser, Vilsa + Albi Gold Apfelsaft klar 1:1)	-	G	-
18.30	H	Bild PE58 G	Paderborner Brot	fr	P	get
		1 TL gestr	+ Butter, van Antje	gek	V	-
		1 EL gestr	+ Buko Frischkäse, 17% Fett	gek	K+M	-
		1 Ta	Frischmilch, 3,5% Fett	fr	V	gek
19.50	H	2 St	Mini Dickmann's Schokokuss, weiß	-	K+V	-
		4 Schluck	Leitungswasser	-	-	-

Rezept: * Frikadelle

Menge	Lebensmittel (Produkt-/Markenbezeichnung, Anreicherung mit Vitaminen und Mineralstoffen, Fettgehalt)	beim Einkauf	
		Zu-stand	Verpa-ckung
500 g	Hackfleisch halb Rind / halb Schwein	tk	K
1 gr	Zwiebel	fr	K
1	Ei	fr	P
1	eingeweichtes Weißbrötchen	getr	P
1 TL	Salz mit Jod, Fluorid und Folsäure	-	P
2 Prisen	Pfeffer	getr	V
1 TL	Düsseldorfer Löwensenf, scharf	-	M
3 EL	Livio-Öl	-	M

Heute eingenommene Zusatzpräparate (Vitamine, Mineralstoffe), Medikamente:

1 Brausetablette „Vitamin C plus Zink“ von Vitalis aufgelöst in einer Tasse Leitungswasser

Hinweise zur Lebensmittelbeschreibung von A - Z



Brot und Brötchen

Es gibt viele verschiedene Sorten. Bitte geben Sie eine möglichst genaue Bezeichnung an sowie das Verpackungsmaterial. Vergessen Sie nicht den Brotaufstrich (insbesondere Streichfette) zu notieren.

Nicht so: Brot, Brötchen

Sondern so: Weißbrot / Graubrot / Vollkornbrot / Knäckebrot mit Sesam (Kunststoff) Weißbrötchen / Mehrkornbrötchen mit Mohn / Rosinenbrötchen (Papier)

Fertiggerichte

Bitte notieren Sie den Marken- und Produktnamen laut Etikett oder geben Sie die Hauptzutaten an. Wichtig ist zudem der Zustand beim Einkauf (z. B. getrocknet, gefroren) und die Verpackung (z. B. Metall, Kunststoff, Papier). Beim Außer-Haus-Verzehr können die Spalten zum Zustand und zur Zubereitung der Gerichte frei gelassen werden.

Nicht so: Pizza

Hamburger
Spaghetti Napoli
Pommes Frites

Sondern so: Salamipizza Ristorante, Dr. Oetker (gefroren, Kunst. + Verbund., geb.)
Cheeseburger, McDonalds (Kunststoff, fertig)
Spaghettigericht Pastini, Aldi (Kunststoff, gekocht mit Wasser)
Pommes Frites (unterwegs + Imbiss, in Schale aus Verbundstoff)

Fette (Butter, Margarine und Öle)

Nennen Sie bei Fetten, Ölen und Margarine, die Sie zum Kochen, Braten und Backen, als Brotbelag und in Dressings verwenden, bitte die genaue Sorte und den Markennamen sowie die Verpackung und Weiterverarbeitung (z. B. gebraten, gekocht).

Nicht so: Öl
Margarine
Fett

Sondern so: Sonnenblumenöl, Thomy / Natives Olivenöl, Bertolli (Glas, gekocht)
Lätta Classic / Halbfettmargarine (Plastik + Metall)
Schweineschmalz (Kunststoff, gebraten)



Lebensmittel und Getränke:
Bitte genaue Beschreibung von Verpackung übernehmen mit Produkt- / Markenbezeichnung (ggf. Discounter), Fettgehalt, Vitamin- / Mineralstoffzusatz oder Rezept

Zustand:
fr = frisch
gek = gekühlt
tk = tiefgekühlt /-gefroren
getr = getrocknet
kons = konserviert
– = keine Angabe

Ort des Verzehr:
H = zu Hause
F = bei Freunden / Verwandten
S = Schule / Kita / Hort
R = Restaurant / Café / Imbiss
U = unterwegs

Verzehnte Menge:
TL = Teelöffel
EL = Esslöffel
→ gestr = gestrichen
→ geh = gehäuft

Be = Becher / großes Glas (≈ 200 ml)
Ta = Tasse / kleines Glas (≈ 150 ml)
St = Stück
Sch = Scheibe
Scha = Schale (kl ≈ 150 ml, gr ≈ 250 ml)
Te = Teller
→ ti = tief
→ gr = groß
→ kl = klein
→ mi = mitte

Pr = Prise
g = Gramm
ml = Milliliter

Verpackung:
K = Kunststoffe (Becher, Folie, Netz)
P = Papier / Pappe
V = Verbundstoffe (Tetra Pak, beschichtetes Papier)
G = Glas
M = Metall (Dose, Tube)
S = sonstige (Holz, Textil)
– = unverpackt

Zubereitung:
gesch = geschält
gek = gekocht / gegart
geb = gebacken (im Ofen)
gebr = gebraten
fr = frittiert
get = getoastet
gegr = gegrillt
– = keine Zubereitung



Anhang 5 Allgemeiner Fragebogen

Klinikum rechts der Isar – Forschergruppe Diabetes – der Technischen Universität München
 Leitung: Prof. Dr. med. Anette-Gabriele Ziegler
 Köfner Platz 1, 80804 München, Tel.: 089-30 68 29 17

Patientennummer:

POGO-Studie - Allgemeiner Fragebogen (Mutter)

Datum, an dem der Fragebogen ausgefüllt wurde: __/__/____(TT/MM/JJJJ)

1. Angaben zu Ihrer Person

1.1: Name: Vorname:

1.2: Geburtsdatum:

1.3: Nationalität:

1.4: Adresse:

Strasse, Hausnummer:

Postleitzahl: Ort:

Telefon: E-Mail:

Handy:

1.5: Was ist ihre Muttersprache?

1.6: Was ist ihr Geburtsland?

1.7: Wie sind Ihre Familienverhältnisse?

Verheiratet Unverheiratet, aber leben zusammen
 Getrennt Unverheiratet und leben nicht zusammen
 Geschieden Verwitwet Single

1.8: Rauchen Sie? Ja Nein keine Angabe
 Wenn ja, wie viele? ____ (Zigaretten pro Tag)

1.9: Haben Sie während der Schwangerschaft geraucht?
 Ja Nein keine Angabe

2. Diabetes nach der Schwangerschaft

2.1: Wurde nach der Schwangerschaft bei Ihnen ein Diabetes diagnostiziert?
 JA NEIN Weiß ich nicht

2.2: Wenn JA: Wann wurde der Diabetes diagnostiziert?

POGO-Studie 1

Klinikum rechts der Isar – Forschergruppe Diabetes – der Technischen Universität München
 Leitung: Prof. Dr. med. Anette-Gabriele Ziegler
 Köfner Platz 1, 80804 München, Tel.: 089-30 68 29 17

Patientennummer:

2.3: Wenn JA: wie wird Ihr Diabetes behandelt?
 Diät Medikamente Insulin Keine Behandlung Weiß ich nicht

↓
 Welche •
 •

3. Gibt es in der Familie Fälle von Diabetes?

Diabetes in der Verwandtschaft der Mutter: JA Nein

Falls ja:

Ihr Vater: Ihre Mutter:

Ihr Großvater väterlicherseits: Ihr Großvater mütterlicherseits:

Ihre Großmutter väterlicherseits: Ihre Großmutter mütterlicherseits:

Ihr Bruder: Ihre Schwester:

***GDM: Schwangerschaftsdiabetes**

Diabetes in der Verwandtschaft des Vaters: JA Nein

Falls ja:

Sein Vater: Seine Mutter:

Sein Bruder: Seine Schwester:

***GDM: Schwangerschaftsdiabetes**

4. Fragen an Sie und den Vater Ihres Kindes?

4.1: Welchen Schul- bzw. Berufsabschluss haben sie?
 (Nennen Sie bitte nur den höchsten Abschluss. Bitte für beide Elternteile angeben!)

	Mutter	Vater
Hauptschulabschluss	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Realschulabschluss	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Abitur	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Abgeschlossene Berufsausbildung	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Abgeschlossenes Studium	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
(Noch) kein Schulabschluss	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

POGO-Studie 2

Klinikum rechts der Isar – Forschergruppe Diabetes – der Technischen Universität München
 Leitung: Prof. Dr. med. Anette-Gabriele Ziegler
 Kölner Platz 1, 80804 München, Tel.: 089-30 68 29 17

Patientennummer:

4.2: Welche der folgenden Angaben zur Berufstätigkeit trifft auf Sie und den Vater Ihres Kindes zu?
 (Bitte für beide Elternteile angeben!)

Zurzeit	Mutter	Vater
... Vollzeit berufstätig	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
... nicht berufstätig (Auszubildender, Student, usw.)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
... arbeitslos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
... vorübergehende Freistellung (z.B. Erziehungsurlaub)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
... Teilzeit oder stundenweise berufstätig	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5. Fragen zur Familiensituation:

5.1: Wo sind Sie derzeit wohnhaft?

Ländliche Umgebung (<10,000 Einwohner) Kleinstadt (>10,000 Einwohner) Großstadt (>100,000 Einwohner)

5.2: Wie viele Personen leben derzeit in Ihrem Haushalt?

5.3: Wie hoch ist das durchschnittliche monatliche Haushaltseinkommen, d.h. das Nettoeinkommen, das alle Haushaltsmitglieder zusammen nach Abzug von Steuern und Sozialabgaben haben? (Einschließlich Erziehungsgeld und Kindergeld)

unter 1000 € 1000 bis unter 2000 € 2000 bis unter 3000 €
 3000 bis unter 4000 € mehr als 4000 € keine Angabe

6. Angaben zum Vater des Kindes:

6.1: Name: Vorname:

6.2: Geburtsdatum:

6.3: Nationalität:

6.4: Was ist seine Muttersprache?

6.5: Was ist sein Geburtsland?

6.6: Raucht Er? Ja Nein keine Angabe
 Wenn ja, wie viele? ____ (Zigaretten pro Tag)

6.7: Hat er während ihrer Schwangerschaft geraucht?
 Ja Nein keine Angabe

6.8: Wie groß ist er? ____ cm

POGO-Studie 3

Allgemeiner Fragebogen ID:

6.9: Wie viel wiegt er? ____ kg

6.10: Hat er einen Typ 1 oder Typ 2 Diabetes?

(wenn ja, Bitte angeben welchen Diabetestyp)

Vielen Dank für Ihre Zeit!

wird vom Studienteam ausgefüllt:

ID:

Datum, an dem der Fragebogen durchgesehen wurde: __/__/____ (TT/MM/JJJJ)

Der Fragebogen wurde durchgesehen von:

POGO-Studie 4

Anhang 6 Protokoll zur Library Quantifizierung mit PicoGreen dsDNA Assay Kit.

Protocol for DNA quantification using the PicoGreen QuantIT

- Prepare DNA at about 2-40ng/μl with standard photometric method, dilute with TE
- Prep. standard as follows: 5 μl of 100 ng/μl standard solution to 5 μl TE -> 50 ng/μl
 from this prep. dilution series with 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78ng/μl
- Dilute the PicoGreen reagent 200 fold in TE; 250 μl per well
- Pipet PicoGreen solution into all used plate wells including blank
- Pipet 1 μl of standard dilutions (50 to 0.78 ng/μl, blank) and 1 μl of all samples in different wells
- Pipet up and down for mixing
- Measure with these adjustments:
 - Wavelength excitation 480nm, emission 520nm
 - Sensitivity high
 - Reads 30
 - Automix 5 sec
 - Auto Calibrate off
 - Assay plate type standard opaque
 - Auto Read off

										50ng/ μl	50ng/ μl
										25	25
										12,5	12,5
										6,25	6,25
										3,13	3,13
										1,56	1,56
										0,78	0,78
										0	0

Publikationsverzeichnis

Originalarbeiten:

- Rossbauer, M., Krause, S., Knoop, J., Raab, J.** (2014). Entstehung und Progression-
šShaping Type 1 Diabetesö. *Diabetes-Congress-Report*, 1, 14-18.
- Much, D., Beyerlein, A. Rossbauer, M., Hummel, S., Z Ziegler, A.G.** (2014).
Beneficial effects of breastfeeding in women with gestational diabetes mellitus.
Molecular Metabolism, in press.
- * **Hummel, S., Much, D., Rossbauer, M., Ziegler, A.G. & Beyerlein, A.** (2013) Postpartum
Outcomes in Women with Gestational Diabetes and their Offspring: POGO Study
Design and First-Year Results. *Rev Diabet Stud*, 10, 49-57.
- ***Ziegler, A.G., Wallner, M., Kaiser, I., Rossbauer, M., Harsunen, M.H., Lachmann, L.,
Maier, J., Winkler, C. & Hummel, S.** (2012) Long-term protective effect of lactation
on the development of type 2 diabetes in women with recent gestational diabetes
mellitus. *Diabetes*, 61, 3167-71.

Die mit * gekennzeichneten Artikel sind Teil der Dissertation.

Abstracts:

- *Rossbauer, M., Rothballer, M., Endesfelder, D., Hartmann, A., Hummel, S., Ziegler, A. G.** (2014). Die Rolle des Darm-Mikrobioms bei der postpartalen Entwicklung von Typ 2 Diabetes bei Müttern mit GDM und Übergewicht bei deren Kindern. 49. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. *Diabetologie und Stoffwechsel*, accepted.
- *Rossbauer, M., Adler, K., Winkler, C., Grallert, H., Illig, T., Ziegler, A. G., Hummel, S.** (2011). Influence of type 2 associated polymorphisms on weight development in offspring of mothers with gestational diabetes. Abstracts of the 47th Annual Meeting of the EASD, Lisbon 2011. *Diabetologia*, 54(1): 162.
- Rossbauer, M., Adler, K., Winkler, C., Grallert, H., Illig, T., Ziegler, A. G., Hummel, S.** (2011). Einfluss von Typ 2 assoziierten Polymorphismen auf die Gewichtsentwicklung bei Nachkommen von Müttern mit Gestationsdiabetes. 46. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 6 (S01): 122.

Die mit * gekennzeichneten Artikel sind Teil der Dissertation.

Danksagung

Ich möchte die Gelegenheit nutzen allen zu danken, die mich bei dieser Arbeit begleitet und unterstützt haben.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Hans Hauner, der als mein Doktorvater die Durchführung dieser Dissertation ermöglichte.

Frau Prof. Dr. Anette-G. Ziegler gilt mein besonderer Dank für die Vergabe des Promotionsthemas und für die Möglichkeit diese durchführen zu können. Neben der wertvollen wissenschaftlichen Betreuung meines Dissertationsprojektes bin ich ihr dankbar, dass sie es mir ermöglichte, die Forschungsergebnisse auf nationaler und internationaler Ebene präsentieren zu können.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Dr. Sandra Hummel für ihre Hilfs- und Diskussionsbereitschaft bei der Planung der Arbeit sowie für ihre fachliche Unterstützung sowie für ihre Hilfe bei Auswertungen und Veröffentlichung der Daten bedanken. Weiterhin danke ich ihr für ihr unermüdliches Korrekturlesen und für ihre guten und wertvollen Ratschläge.

Großer Dank gilt dem POGO-Team und allen die zum Gelingen der POGO-Studie beigetragen haben: Dr. Sandra Hummel, Dr. Daniela Much, Susanne Hummel, Melanie Bunk, Melanie Herbst, Sibille Jergens, Antonia Roll, Hannah Jaschinski, Bettina Mirgeler, Lorenz Lachmann, Dr. Andreas Beyerlein, Dr. Anna Huppert und Eleni Giannopoulou.

Insbesondere gilt ein großes Dankeschön Herrn Prof. Anton Hartmann und Dr. Michael Rothballer, die mir mit ihrer stetigen Hilfsbereitschaft und ihrem Fachwissen die Analyse des Darm-Mikrobioms ermöglicht haben. Außerdem gilt mein Dank den Mitarbeitern der Abteilung Mikroben-Pflanzen Interaktion für die Einführung in den Laborablauf und die stets tolle Unterstützung bei allen Fragestellungen und Problemen.

Harald Grallert und Simone Wahl danke ich für die gute Kooperation bei der Genotypisierung. Bei Frau Toeller bedanke ich mich für die Kooperation und die Bereitstellung des Ernährungsfragebogens FFQ 85. Auch danken möchte ich Jennifer Raab, Stefanie Krause, Dr. Daniela Much, Dr. Christiane Winkler und Dr. Maren Pflüger für die freundschaftliche Unterstützung während der gesamten Zeit, für die aufmunternden Worte, Ratschläge und Hilfestellungen und für die unzähligen fachlichen sowie privaten Gespräche.

Besonderer Dank gilt meinen Eltern und meinem Partner Michael. Sie haben immer an mich geglaubt, mir vertraut und mich in jeder Hinsicht unterstützt. Damit haben sie maßgeblich zum Gelingen der Arbeit beigetragen.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Michaela Roßbauer
Geburtsdatum	03.06.1982
Geburtsort	München
Familienstand	ledig

PROMOTION

04/2010-02/2014	Wissenschaftliche Mitarbeiterin und Doktorandin am Institut für Diabetesforschung am Helmholtz Zentrum, München Thema der Dissertation: §Postpartale Entwicklung von Diabetes bei Müttern mit Gestationsdiabetes sowie Übergewicht bei deren Kindern und die Rolle des Darm-Mikrobioms Schwerpunkte: Darm-Mikrobiom, Genetik und Ernährung
-----------------	--

SCHULAUSSBILDUNG & STUDIUM

10/2004-10/2009	Studium der Ernährungswissenschaften Justus-Liebig-Universität, Gießen Abschluss: Master of Science: 1,8 Experimentelle Masterarbeit: Bestimmung Pharmakokinetischer Parameter des Leucinstoffwechsels Bachelorarbeit: Vorkommen von D-Aminosäuren in Lebensmitteln Abschluss: Bachelor of Science: 1,9
09/1999-06/2003	Erasmus-Grasser-Gymnasium, München; Abschluss: Abitur