

Aus der III. Medizinischen Abteilung des  
Städtischen Klinikum München GmbH  
Städtisches Krankenhaus München-Schwabing  
Vorstand: Professor Dr. med. Eberhard Standl

und aus der klinisch-experimentellen Abteilung des  
Instituts für Diabetesforschung  
Leitung: Professor Dr. med. Anette-G. Ziegler

**Einfluss der Ernährung im ersten Lebensjahr auf die Entwicklung  
von Diabetes- und Zöliakie-assoziiertes Autoimmunität**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Doris Huber

aus

München

2005

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Michael Hummel

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. S. Koletzko

Priv. Doz. Dr. Ch. Klein

Prof. Dr. G. Sauter

Mitbetreuer durch den  
promovierten Mitarbeiter: Prof. Dr. med. Anette-G. Ziegler

Dr. oec-troph. Sandra Hummel

Dekan: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Tag der mündlichen Prüfung: 24. November 2005

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>Untersuchungskollektiv und Methodik</b>	<b>4</b>
2.1	Untersuchungskollektiv	4
2.2	Fragebögen	6
2.3	Testungen der Autoantikörper	7
2.3.1	Bestimmung der Diabetes-assoziierten Autoantikörper	7
2.3.1.1	Bestimmung der Insulin-Autoantikörper (IAA)	7
2.3.1.2	Bestimmung der Autoantikörper gegen Glutaminsäuredecarboxylase (GADA) und Proteintyrosin-Phosphatase IA-2 (IA-2A)	8
2.3.2	Bestimmung der Zöliakie-assoziierten Autoantikörpern gegen tissue-Transglutaminase C (tTGC-Ak)	9
2.4	Humane Leukozyten Antigene (HLA)-Typisierung	11
2.5	Statistische Analyse	12
<b>3.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>14</b>
3.1	Ernährungsgewohnheiten der Kinder	14
3.1.1	Stillen	14
3.1.2	Zufütterung von Beikost	18

3.2	Entwicklung von Insel-Autoimmunität	22
3.2.1	Einfluss der Stillgewohnheiten auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität	22
3.2.2	Einfluss der Einführung von Beikost auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität	29
3.2.2.1	Insel-Autoimmunität und Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung)	29
3.2.2.2	Insel-Autoimmunität und Einführung von glutenhaltiger Beikost	31
3.2.2.3	Insel-Autoimmunität bei verschiedener Ernährung während der ersten drei Lebensmonate	36
3.3	Entwicklung von Insel-Autoimmunität bei Kindern mit erhöhtem genetischen Diabetesrisiko (HLA DRB1*03/04-DQ8)	38
3.3.1	Einfluss der Stillgewohnheiten auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität	38
3.3.2	Einfluss der Einführung von Beikost auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität	41
3.3.3	Einfluss der Ernährung in den ersten drei Lebensmonaten auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität	44
3.4	Einfluss der Ernährungsgewohnheiten auf die Entwicklung von Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase C (tTGC-Ak)	46
<b>4.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>49</b>
4.1	Grundlagen	49
4.1.1	Typ 1 Diabetes	49
4.1.2	Zöliakie	52
4.1.3	Diabetes- und Zöliakie-assoziierte Autoantikörper	54

4.1.4	Bedeutung des HLA-Typs und Umweltfaktoren für die Entstehung von Typ 1 Diabetes und Zöliakie	58
4.1.4.1	Bedeutung des HLA-Typs für die Entstehung des Typ 1 Diabetes und der Zöliakie	58
4.1.4.2	Bedeutung der Umweltfaktoren für die Entstehung des Typ 1 Diabetes und der Zöliakie	60
4.1.5	Empfehlungen für die Ernährung von Säuglingen und Kindern	61
4.2	Diskussion eigener Ergebnisse	63
4.2.1	Einfluss von Ernährungsfaktoren auf die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern	63
4.2.1.1	Einfluss der Stilldauer sowie der Einführung von industrieller Säuglingsmilchnahrung auf die Entstehung von Insel-Autoantikörpern	63
4.2.1.2	Einfluss der Einführung von Beikost auf die Entstehung von Insel-Autoantikörpern	68
4.2.1.3	Assoziation zwischen Typ 1 Diabetes und Zöliakie – Gluten als Ursache?	70
4.3	Einfluss von Ernährungsfaktoren auf die Entwicklung von Zöliakie-assoziierten Antikörpern (tTGC-Ak)	73
4.4	Validität der Daten	75
<b>5.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>76</b>
<b>6.</b>	<b>Ausblick: Bedeutung der Ergebnisse für präventive Studien</b>	<b>80</b>
<b>7.</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>82</b>
<b>8.</b>	<b>Danksagungen</b>	<b>93</b>
<b>9.</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>95</b>

## Abkürzungsverzeichnis

AGA	Anti-Gliadin-Antikörper
Abb.	Abbildung
Ak	Antikörper
ELISA	Enzyme linked immunsorbent assay
GADA	Antikörper gegen Glutamatdecarboxylase
HLA	Human leucocyte antigen
IAA	Insulinantikörper
IA-2A	Antikörper gegen die Tyrosinphosphatase IA-2
ICA	zytoplasmatische Inselzellantikörper
NOD-Maus	non obeses diabetic Maus
Tab.	Tabelle
Th1, Th2-Zellen	T-Helfer 1 - bzw. T-Helfer 2 – Zellen
tTGC-Ak	Antikörper gegen tissue Transglutaminase C ( = Zöliakie-assoziierte Antikörper)

## **1. Einleitung**

Typ 1 Diabetes ist eine Autoimmunerkrankung mit einer chronischen Störung des Glucosemetabolismus. Die Prävalenz liegt in Deutschland bei ca. 0,3%. Derzeit ist die Krankheit in ihrer Entstehung weder komplett erforscht, noch ist sie heilbar. Im Hinblick auf die mannigfaltigen und massiven Folgeerkrankungen, die sowohl bei den Betroffenen zu großem Leid führen, als auch das Gesundheitswesen jährlich mit enormen Kosten belasten, sollte besonders bei Risikogruppen nach primärpräventiven Maßnahmen geforscht werden. Hierdurch könnten der Ausbruch der Krankheit verhindert bzw. durch Sekundärprävention frühzeitige therapeutische Optionen realisiert und Sekundärkomplikationen vermieden oder zumindest verzögert werden.

Als Voraussetzung für die Entwicklung von primärpräventiven Maßnahmen ist jedoch ein besseres Verständnis der Pathogenese des Typ 1 Diabetes nötig.

Eine genetische Grundlage für die Entstehung der Erkrankung gilt bereits als gesichert (Davies, 1994). Zusätzlich werden Umweltfaktoren als Trigger bzw. Auslöser der Erkrankung angenommen (Leslie, 1994). Der Manifestation des Typ 1 Diabetes geht eine präklinische Phase voraus, die durch das Auftreten von Autoantikörpern gegen die Inselzellen des Pankreas gekennzeichnet ist (Atkinson, 2001; Eisenbarth, 1986). Dies geschieht bereits im Kindes- und Jugendalter, was vermuten lässt, dass Faktoren, die schon sehr früh im Leben auf das Immunsystem einwirken, wie z. B. Nahrungsantigene, für den Defekt des Immunsystems und die daraus resultierende Autoimmunität verantwortlich sind (Ziegler, 1999a).

In diesem Zusammenhang wird eine Reihe von Umweltfaktoren wie beispielsweise die Säuglingsernährung als möglicher Auslöser bzw. Modulator des Autoimmunprozesses bei Typ 1 Diabetes diskutiert. So wurde berichtet, dass die frühe Einführung von Kuhmilch in die Ernährung oder zeitlich verkürztes Stillen mit einem erhöhten Risiko, an Typ 1 Diabetes zu erkranken, einhergehen (Kimpimaki, 2001a; Dahlquist, 1999; Pozzili, 1997; Elliot, 1998; Gerstein IIC, 1994; Hyöty, 1993; Borch-Johnson, 1984). Dies führte zu der Behauptung, dass die Typ 1 Diabetes-assoziierte Autoimmunität auf immunogene Reaktionen auf Kuhmilchproteine begründet sei (Vaarala, 1999a; Vaarala, 1996; Cavallo, 1996; Karjalainen, 1992). In kleineren prospektiven Studien an genetisch ausgewählten Kindern und auch im Rahmen einer vorläufigen Analyse der Ergebnisse der BABYDIAB-Studie, der eine geringere Fallzahl als der

vorliegenden Arbeit zugrunde lag, konnte eine Assoziation zwischen der Stilldauer oder der Einführung von Kuhmilch bzw. von auf Kuhmilch basierender Säuglingsmilchnahrung und der Entstehung von Insel-Autoantikörpern bzw. Typ 1 Diabetes nicht bestätigt werden (Hummel, 2000a; Couper, 1999; Graves, 1999; Norris, 1996a). Es erscheint somit unwahrscheinlich, dass der in einigen Studien gefundene Zusammenhang zwischen Typ 1 Diabetes-assoziiierter Immunität und Kuhmilch, auf der Grundlage gemeinsamer Antigenen entstanden ist (Atkinson, 1997).

Neben den Kuhmilchproteinen wird vor allem im Tiermodell das im Getreide erhaltene Klebereiweiß Gluten als Auslöser oder Trigger des Typ 1 Diabetes diskutiert. Gluten konnte vor längerer Zeit als Auslöser der Zöliakie identifiziert werden (van de Wal, 1998; Lundin, 1993).

Interessanterweise leiden ca. 5% der Typ 1 Diabetiker zusätzlich an Zöliakie, insbesondere der silenten Form, deren Prävalenz im Vergleich zu 0,3% in der Normalbevölkerung erhöht ist (Not, 2001, Hummel, 2000b; Cronin, 1997). Gluten wird sehr früh im Leben, meist um den sechsten Lebensmonat, das erste Mal Kleinkindern zugefüttert. Es wird vermutet, dass Veränderungen des Zeitpunkts der erstmaligen Gabe und der Menge der Glutenexposition das Risiko, Zöliakie zu entwickeln, beeinflussen (Ivarsson, 2000; Challacombe, 1997; Weile, 1995; Greco, 1985). Ob der Zeitpunkt der erstmaligen Gabe von Gluten auch bei der Entstehung von Inselzell-Autoimmunität eine Rolle spielt, ist bisher unbekannt. Das gehäufte gemeinsame Auftreten von Typ 1 Diabetes und Zöliakie, sowie eine verminderte Prävalenz von diabetischer Inselzell-Autoimmunität nach Verzicht auf glutenhaltige Nahrungsmittel bei Zöliakie-Patienten (Ventura, 2000) sprechen jedoch für einen derartigen Zusammenhang. Ferner deutet eine geringere Inzidenz von autoimmunem Diabetes bei NOD (non obese diabetic) – Mäusen unter glutenfreier Ernährung darauf hin, dass ein Zusammenhang zwischen der Glutenexposition und Typ 1 Diabetes-assoziierten Autoimmunität besteht (Funda, 1999).

Die vorliegende Arbeit soll zu neuen Erkenntnissen in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes und der Zöliakie führen und dadurch zur Entwicklung eines Studienkonzeptes zur Primärprävention des Typ 1 Diabetes beitragen.

Hierzu wurde im Rahmen der BABYDIAB-Studie bei Kindern, deren Väter und/oder Mütter an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, prospektiv untersucht, ob Ernährungsgewohnheiten im ersten Lebensjahr Einfluss auf das Risiko haben, Diabetes- und/oder

Zöliakie-assoziierte Autoimmunität zu entwickeln. Die Studie fragt insbesondere, ob bei Kindern mit erstgradigen Verwandten mit Typ 1 Diabetes die Dauer des Stillens, der Zeitpunkt der Einführung von industriell hergestellter Säuglingsmilchnahrung und von Beikost oder das Alter bei erstmaliger Gabe von Gluten beinhaltenden Nahrungsmitteln Einfluss auf die Prävalenz von Diabetes- und/oder Zöliakie-spezifischen Autoantikörpern haben.

## **2. Untersuchungskollektiv und Methodik**

### **2.1 Untersuchungskollektiv**

Das Studienkollektiv bilden Kinder, die an der BABYDIAB-Studie teilnehmen (Ziegler, 1999a). BABYDIAB ist eine deutschlandweite Studie, die seit 1989 am Institut für Diabetesforschung in München unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Ziegler durchgeführt wird.

Die Studie hat zum Ziel, den durch das Auftreten von Insel-Autoantikörpern charakterisierten Zeitpunkt der Entstehung der Insel-Autoimmunität im Leben eines Typ 1 Diabetikers zu identifizieren. Ferner sollen die Entstehungsphasen der ersten Autoimmunreaktion charakterisiert werden und der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Insel-Autoimmunität und erblichen Markern sowie Umwelteinflüssen analysiert werden. Es handelt sich um eine prospektive Studie, die bei Kindern, deren Mütter und/oder Väter an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, von Geburt an das Auftreten der drei Insel-Autoantikörper (Insulin-Autoantikörper [IAA], Glutaminsäuredecarboxylase-Antikörper [GADA] und Antikörper gegen die Tyrosin-Phosphatase IA2 [IA-2A]) und die Entwicklung des Typ 1 Diabetes untersucht, und Umweltfaktoren wie beispielsweise Ernährung und verschiedene Impfungen durch Fragebögen erfasst. Die Insel-Autoantikörper werden aus Nabelschnurblut bei Geburt und aus venösen Blutproben im Alter von 9 Monaten, 2 Jahren, 5 Jahren, 8 Jahren und 11 Jahren gemessen. Bei Kindern mit positivem Insel-Autoantikörper-Befund wird das Blut jährlich kontrolliert. Zusätzlich wird der HLA (Human Leucocyte Antigen) DR und DQ Genotypen aus der 2-Jahres-Probe bestimmt, was eine Untergliederung der Kinder in Risikogruppen für die Entstehung von Insel-Autoantikörpern ermöglicht (Schenker, 1999).

Bisher wurden 1709 Kinder bei Geburt in die Studie eingeschlossen. Davon hat ein Kollektiv von 1610 erstgradigen Verwandten von Typ 1 Diabetikern mindestens an der Nachuntersuchung im Alter von neun Monaten teilgenommen und wurden damit in das Patientenkollektiv für die vorliegende Arbeit aufgenommen. Dabei stammen 1010 Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes, 572 Kinder von Vätern mit Typ 1 Diabetes, bei 28 Kindern waren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt.

Zum Analysezeitpunkt (2002) betrug die kumulative drop-out-Rate 7,2% im Alter von zwei Jahren und 14,3% im Alter von fünf Jahren. Der mittlere Beobachtungszeitraum

lag bei 6,5 Jahre mit einer Reichweite von 9 Monaten bis zu 12,5 Jahren; insgesamt wurden die Kinder 9115 Jahre beobachtet.

Die HLA-Typisierung (DR und DQ) konnte bei 1367 Kindern durchgeführt werden.

105 Kinder (7,7%) hatten den HLA DRB1\*03-DQ\*02/DRB1\*04-DQB1\*0302 (DR3/DR4-DQ8) Genotyp, der mit dem höchsten Diabetes-Risiko (25-40% im Vergleich zur Normalbevölkerung) verbunden ist, 59 Kinder (4,3%) hatten den HLA-Typ DR4/DR4 DQB1\*0302/0302, bei dem das Risiko für eine Diabetesmanifestation um ca. 10% erhöht ist. 35 (2,6%) der untersuchten Kinder hatten den Zöliakie-Risiko-Genotyp HLA DR3/DR3 DQB1\*02/02.

Während des Nachverfolgungszeitraums hatten 78 Kinder persistierende Insel-Autoantikörper entwickelt (definiert durch positive Antikörper-Titer bei einem oder mehreren Insel-Autoantikörpern [IAA, GADA, IA-2A] in mindestens zwei aufeinander folgenden Serumproben), was 4,8% der 1610 untersuchten Kinder entspricht. Davon hatten 46 Kinder bei zwei oder mehreren Antikörpern erhöhte Werte. Bei weiteren drei Nachkommen, die bei ihrer letzten Untersuchung für mindestens einen Insel-Autoantikörper positiv waren, wurde der Antikörperstatus noch nicht in einer weiteren Blutprobe überprüft. Diese wurden als negativ für Insel-Autoantikörper eingestuft. 20 der 78 Kinder mit persistierenden Insel-Autoantikörpern hatten Typ 1 Diabetes entwickelt. Dabei lag die Rate für die Entstehung von Typ 1 Diabetes unter den 78 Insel-Autoantikörper-positiven Kindern bei 54%, wenn das Kind bis zum Alter von acht Jahren für mindestens einen Insel-Autoantikörper positiv war. Bei den 46 Kindern, bei denen zwei oder drei Insel-Autoantikörper als positiv gemessen wurden, lag die Typ 1 Diabetes-Rate bei 65%.

Antikörper gegen Gewebetransglutaminase C (tTGC-Ak) wurden im Alter von 2 und 5 Jahren bei 1016 Nachkommen gemessen (Hummel, 2000b). 20 Nachkommen hatten persistierende IgA-tTGC-Ak entwickelt. Von diesen waren 16 ebenso für IgA-Endomysium-Antikörper positiv, 8 hatten eine durch Biopsie bewiesene Zöliakie.

Diese Studie wurde durch die Ethikkommission von Bayern, Deutschland genehmigt (Bayerische Landesärztekammer Nr. 95357).

## 2.2 Fragebögen

Alle Familien füllten bei Geburt, im Alter von 9 Monaten und im Alter von 2 Jahren Fragebögen über die Stillgewohnheiten aus (Hummel, 2000a). Um die ausschließliche Stillzeit zu ermitteln, wurden die Mütter insbesondere nach der Woche gefragt, in der sie erstmals industriell hergestellte Säuglingsmilchnahrung oder andere Nahrung außer Muttermilch gefüttert haben. Ferner wurde gefragt, wie viele Wochen das Kind insgesamt regelmäßig (täglich) gestillt wurde, wodurch sich die Stilldauer insgesamt ergab. Auswertbare Angaben konnten für 1445 Kinder erzielt werden.

Die Familien wurden zusätzlich darum gebeten, sich Aufzeichnungen zu machen, wann sie welches Nahrungsmittel in die kindliche Ernährung einführen. Zwischen Oktober 2001 und Dezember 2001 wurden die Familien telefonisch befragt, um Informationen darüber zu erhalten, wann sie das Beifüttern zur Milchnahrung (Muttermilch und/oder industriell hergestellte Säuglingsmilchnahrung) begonnen hatten und zu welchem Zeitpunkt zum ersten Mal glutenhaltige Nahrungsmittel gefüttert wurden. Die Eltern erhielten eine Liste von Nahrungsmitteln, die Gluten enthalten bzw. glutenfrei sind. 1357 Familien machten Angaben zu den ihnen gestellten Fragen. Darin waren 157 Familien enthalten, die sich nicht daran erinnern konnten, wann sie zum ersten Mal Beikost zugefüttert haben. 210 Familien konnten über den Zeitpunkt der ersten Gabe glutenhaltiger Nahrungsmittel keine Angaben machen. Familien, die angegeben haben, ihren Kindern bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat Beikost zugefüttert zu haben oder ihnen glutenhaltige Nahrungsmittel gegeben zu haben, wurden ein zweites Mal befragt, um sich der Validität der Antwort zu vergewissern. Die Familien wurden gefragt, welches Nahrungsmittel sie wann und aus welchem Grund eingeführt haben. In 5 (7%) Fällen wichen die Antworten aus der ersten Befragung von der Beschreibung der Nahrungsmittel in der zweiten Befragung ab. Diese Fälle wurden zu der Gruppe der Familien gezählt, die sich nicht erinnern konnten. Um möglicherweise auftretende Fehlangaben zu überprüfen, wurden die Eltern zusätzlich telefonisch darum gebeten, sich nochmals an die bereits bei zurückliegenden Untersuchungen prospektiv erhobenen Daten über die exklusive und gesamte Stilldauer zu erinnern. Dabei wurde den Eltern nicht mitgeteilt, welche Antwort sie damals in den Fragebögen gemacht hatten.

Im Hinblick auf die exklusive und gesamte Stilldauer sowie auf den Zeitpunkt der Einführung glutenhaltiger Nahrung unterschieden sich die Fälle mit fehlenden Angaben

nicht signifikant von denen mit gültigen Angaben unter Berücksichtigung der Geburtsdaten der Kinder, der durchschnittlichen Beobachtungszeit sowie der Häufigkeit von Insel-Autoantikörper-positiven Kindern. In der Gruppe, die keine Angaben zum Zeitpunkt der Einführung von Beikost machen konnten, wurden signifikant weniger Autoantikörper positive Kinder festgestellt ( $p < 0,02$ ).

## 2.3 Testungen der Autoantikörper

Autoantikörper gegen Insulin (IAA), GAD und IA-2 wurden mittels Radiobindungsassay bestimmt (Ziegler, 1999a; Naserke, 1999). Die Grenze zwischen normalen und erhöhten Titern wurde über q-q-Plots definiert (Ziegler, 1999a). Diese entspricht 8,5 Units/ml bzw. 25 WHO Units/ml für GAD-Antikörper (GADA) sowie 2,5 bzw. 4 WHO Units/ml für IA-2-Antikörper (IA-2A) und 1,5 Units für IA-Antikörper (IAA). Bei der Anwendung dieser Grenzwerte für Positivität ergaben sich Sensitivitäten und Spezifitäten von 80% und 94% (GAD-Antikörper), 58% und 100% (IA-2-Antikörper) und 30% und 98% (IAA) im ersten Internationalen Antikörper-Workshop (DASP Proficiency) (Bingley, 2003). IgA-tTGC-AK wurde ebenfalls mittels Radiobindungsassay gemessen (Hummel, 2000b). Um die Schwelle zur Positivität bei IgA-tTGC-Ak zu bestimmen, wurde die 99. Perzentile der IgA-tTGC-AK bei nicht-diabetischen und nicht an Zöliakie erkrankten Kindern einer Kontrollgruppe verwendet. Alle Messungen wurden als codierte Blindproben durchgeführt.

### 2.3.1 Bestimmung der Diabetes-assoziierten Autoantikörper

#### 2.3.1.1 Bestimmung der Insulin-Autoantikörper (IAA)

Bei den Antikörpern gegen Insulin werden zwei Arten differenziert, die jedoch labor-technisch nicht zu unterscheiden sind: Die 1983 von Palmer (Bottazo, 1985) entdeckten Insulin-Autoantikörper (IAA) treten vor der exogenen Insulintherapie auf und sind gegen körpereigenes Insulin gerichtet. Mit „IA“ werden Insulin-Antikörper bezeichnet, wenn die Antikörperbildung nicht eindeutig durch ein „Auto“-Antigen induziert wurde,

z.B. bei mit Insulin behandelten Patienten oder bei diaplazentar übertragenen Antikörpern.

Die von Williams et al. beschriebene Testmethode (Williams, 1997) wurde leicht modifiziert verwendet, d.h. es wurde beim Präzipitationsschritt neben Protein A- auch Protein G-Sepharose (Amersham, Bioscience, Freiburg) eingesetzt. Serum (5 $\mu$ l) wurde in einem Gesamtvolumen von 55  $\mu$ l mit 22.000 cpm  $^{125}$ J-A14-markiertem Insulin (Aventis) in Parallelansätzen mit bzw. ohne nicht-radioaktivem Insulin (8 Units/ml; Insuman® Rapid, Aventis) in Rundbodenröhrchen angesetzt und nach kurzer Zentrifugation bei 2000 U/min und leichtem Schütteln bei 1000 rpm für 72 Stunden bei 4°C inkubiert. Durch Zugabe von 1,5 mg vorgequollener Protein A-Sepharose (Amersham Pharmacia) und 2  $\mu$ l Protein G-Sepharose (Amersham Pharmacia) in 50 $\mu$ l TBT und einstündiger Inkubation bei 4°C auf einem Orbital-Schüttler wurden die Antikörper-Antigen-Komplexe präzipitiert. Alle Schritte des Assays wurden mit eiskaltem TBT-Puffer (50 mM Tris, 1% Tween 20, pH 8,0) durchgeführt. Zwischen den nun folgenden fünf Waschschritten mit je 1,8 ml Puffer wurden die Proben jeweils 5 Minuten bei 2000 rpm zentrifugiert und der Überstand aspiriert. Die Radioaktivität des Sepharose-Pellets wurde neun Minuten mit einem Gammazähler (Cobra II, Canberra Packard) gemessen. Für jede Probe wurde die Radioaktivität ( $\Delta$ cpm) des spezifisch präzipitierten Insulins berechnet, indem der Mittelwert des inhibierten Duplikats (cpm) vom Mittelwert des nicht inhibierten Duplikats (cpm) subtrahiert wird. Alle Proben, bei denen sich ein negatives  $\Delta$ cpm ergab, bekamen 0,0 Units zugewiesen. Die Ergebnisse aller anderen Proben wurden anhand einer geometrischen Standardkurve (1:2) aus elf Verdünnungen eines Positivserums in Negativserum in Einheiten (Units) konvertiert. Dem unverdünnten Positivserum wurden willkürlich 200 Units zugeordnet. Die Grenze für IAA-Positivität liegt bei 1,5 Units.

### 2.3.1.2 Bestimmung der Glutaminsäuredecarboxylase-Antikörper (GADA) und Proteintyrosin-Phosphatase IA-2 (IA-2A)

GADA sind Antikörper gegen ein 64-KD-Inselzell-Protein. Dieses Protein identifizierte Baekkeskov als das GABA-synthetisierende Enzym Glutaminsäure-Decarboxylase (GAD) (Bu, 1992). IA-2A sind Antikörper gegen ein 40-KD-Inselzell-Protein, das vor

kurzem als intrazellulärer Anteil der Proteintyrosin-Phosphatase IA-2ic (= ICA512) identifiziert wurde. Beide Antikörper gelten als hochspezifische prädiktive Marker für die klinische Manifestation eines Typ 1 Diabetes.

2 µl Serum werden in je zwei wells einer 96er deep-well Platte pipettiert. 20.000 cpm des jeweiligen <sup>35</sup>S-markierten Antigens in 25 µl TBST (50mM Tris, 0,15M NaCl, 1% Tween 20, pH 7,4) werden zugegeben und der Ansatz nach einer Zentrifugation bei 2000rpm für 30 Sekunden über Nacht bei 4°C inkubiert. Für die Präzipitation wird am nächsten Tag die Platte eine Stunde bei 4°C mit 1 mg vorgequollener Protein-A-Sepharose (Amersham Pharmacia) und 3 µl Protein-G-Sepharose (Amersham Pharmacia) in 50µl TBST pro well auf einem Orbital-Mixer geschüttelt. Anschließend werden die Sepharose-Antigen-Antikörper-Komplexe in den Platten fünf Mal mit 800 µl/well eiskaltem TBST gewaschen. Dafür wird jeweils der Puffer mit einem Elisa-Washer-Aufsatz zugegeben, fünf Minuten bei 2000 rpm und 4°C zentrifugiert und der Überstand mit einer Vakuumpumpe bis auf ca. 100 µl abgesaugt. Nach dem Waschen werden die Pellets in 100 µl TBST resuspendiert, für eine Minute bei 500 rpm geschüttelt und in Messplatten überführt. Jeder Probe werden 150 µl Szintillations-Flüssigkeit (Microscint 40, Packard) dazu pipettiert, die Platte mit Folie versiegelt und eine halbe Stunde bei Raumtemperatur geschüttelt. Die cpm werden im Platten-Radioaktivitäts-Messgerät (Top Count, Microplate Scintillation Counter, Packard) bestimmt.

### 2.3.2 Bestimmung von Zöliakie-assoziierten Antikörpern: tissue-Transglutaminase C (tTGC)-Autoantikörper

Autoantikörper gegen die tissue-Transglutaminase (tTGC) werden mittels eines Radioliganden-Bindungs-Assays (RBA) bestimmt. Die Klonierung humaner tTGC erfolgt aus der RNA humaner Pankreaszellen (Bazzigaluppi, 1999). Die cDNA wird im pGEM-T-easy Vector (Promega, Madison, WI, USA) unter Kontrolle des SP Promotors kloniert (V. Lampasona, Hospital San Raffaele, Mailand, Italien). Die tTGC wird in vitro auf Eis mit Hilfe eines kommerziellen Kits (TNT® SP6 Coupled Reticulocyte Lysate Kit, Promega) in Anwesenheit radioaktiv markierten Methionins (<sup>35</sup>S) (Amers-

ham, UK) und unter Einsatz von 6 µl cDNA transkribiert und translatiert. Nach Inkubation des fertigen Ansatzes für 2 Stunden bei 30°C wird die Probe in 100 µl TBST-Puffer (150 mmol/l NaCl, 1% Tween 20, 50 mmol/l TRIS-HCl, pH 7,4) aufgenommen. Die Abtrennung von freiem, nicht in das Antigen eingebautem <sup>35</sup>S-Methionin erfolgt über Massengewichtssäulen (NAP-5; Pharmacia, Uppsala, Schweden).

Alle Testschritte werden auf Eis durchgeführt. Pro Testserum werden in Duplikaten jeweils 2 µl des unverdünnten Serums mit 15000cpm radioaktiv markierter tTGC in 25 µl TBST in Rundbodenröhrchen angesetzt und über Nacht bei 4°C inkubiert.

Bei der Messung tTGCA-IgA kommt es bei der Bindung der Immunkomplexe zur alleinigen Verwendung von 4 µl / Röhrchen Anti-IgA kovalent gebundenen Agarosebeads (Sigma-Aldrich) gelöst in 50 µl TBST / Röhrchen. Im Gegensatz dazu werden bei der Messung von tTGCA-IgG 1,5 mg / Röhrchen über Nacht gequollener Protein-A Sepharose (Pharmacia) gelöst in 50 µl TBST / Röhrchen zur Bindung der Immunkomplexe verwendet. Nach einer Stunde Inkubation bei 4 °C unter Rütteln werden die Proben vier Mal gewaschen (1,8 ml TBST pro Röhrchen, 5 min Zentrifugation bei 2100 rpm) und das Pellet anschließend in 2 ml Szintillationsflüssigkeit (Optofluor, Canberra Packard, Meriden, CT, USA) gelöst. Die gebundene Radioaktivität wird in einem Liquid-Szintillationscounter (1219 Rackbeta, Wallac, UK) gemessen, ausgedrückt als gemessene Radioaktivität in Zerfällen pro Minute (cpm). Bei jedem Versuchsansatz werden ein tTGCA-Negativ-Serum und 8 Verdünnungen eines tTGCA-Positiv-Serums zur Erstellung einer Standardkurve mitgeführt, mit deren Hilfe der Antikörpertiter der Proben (in Units) berechnet werden kann (Software des Top Count, Packard). Folgende Verdünnungsstufen des tTGCA-Positiv Serums mit Negativ Serum werden verwendet: 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024, 1:2048. Den Messwerten (cpm) des Negativ-Serums werden 0 Units und der Verdünnung des Positiv-Serums 150 Units zugeteilt. Um die Sensitivität des kombinierten Assays zu prüfen, wurden aus jeweils einem Serum, das ausschließlich tTGCA-IgA positiv ist und einem Serum, das ausschließlich tTGCA-IgG positiv ist, eine Verdünnungsreihe mit Negativ-Serum erstellt. Diese Verdünnungen wurden getrennt für tTGCA-IgA und tTGCA-IgG getestet und jeweils die Verdünnungsstufe mit einem am Cut-off liegenden Titer ermittelt. Diese wird bei jedem Combi-Assay als Qualitätskontrolle mitgetestet.

## 2.4 Humane Leukozyten Antigene (HLA)-Typisierung

Die HLA-Klasse II Allele HLA-DRB1, HLA-DQA1 und HLA DQB1 wurden mit der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und der Dot-Blot-Hybridisierung mit nicht radioaktiv markierten Oligonukleotiden (sequence-specific oligonucleotide typing = SSO) bestimmt (Schenker, 1999). Die HLA-DRB1-, HLA-DQA1- und HLA-DQB1-Allele wurden entsprechend der Nomenklatur von 1996 (WHO Nomenclature Committee) benannt.

Zur Isolierung der benötigten DNA der Blutleukozyten wurden 10 ml EDTA-Blut 10 min bei 2000 U/Min zentrifugiert und der Überstand (Plasma) abgesaugt. Zur Lyse der Erythrozyten wurde zwei Mal ELB-Puffer zugegeben und danach jeweils 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand abgesaugt. Das nun deutlich sichtbare Pellet wurde in 3 ml NLB (nuclei lysis buffer aus 10nM Tris pH 8,0, 400nM NaCl, 2ml EDTA) aufgelöst sowie 600 µl PSB (proteinase stock buffer aus 1% SDS, 2mM EDTA)+Proteinase K-Lösung und 200 µl SDS 10% hinzugefügt. Durch Zugabe von 1 ml NaCl 6M pro 4 ml DNA-Lösung wurde bei dem Präparat, das vorher über Nacht (ca. 18 h) im Wasserbad bei 42°C geschwenkt wurde, die Proteine ausgesalzen. Nach Abkühlung und 25-minütigem Zentrifugieren bei 3000 U/min wurde der Bodensatz verworfen und die überstehende DNA-Lösung für die Präzipitation mit Isopropanol im Verhältnis 1:1 aufgefüllt. Schließlich wurde die DNA in 3ml 70%-igem Ethanol dreimal gewaschen, getrocknet, mit TE-Puffer (1mM Tris-HCl; 0,1 nM EDTA, PH 8,0) aufgelöst und auf eine Konzentration von 250 µl/ml eingestellt. Bis zur weiteren Verarbeitung wurde die DNA bei -21°C gelagert.

Die genomische DNA (1 µg) wurde nach Hinzufügen von Primern (25 pmol), dNTP`s (20 nmol), 2,5 Units Taq Polymerase und Puffer (10mM Tris HCl pH 8,3; 50mM KCl, 1,5mM MgCl<sub>2</sub>; 0,001% Gelatine) mittels PCR in einem Perkin Elmer Cetus 9600-Thermocycler (Denaturierung bei 94°C für 10 min, danach 33 Amplifikationszyklen) amplifiziert. Die Kontrolle der Amplifikate erfolgte in einem 2%igem Agarosegel. Für die Dot-Blot-Hybridisierung wurden die Amplifikate (2,5 µl) auf Nylonmembranen (Boehringer Mannheim) getropft, die, um die doppelsträngige DNA in Einzelstränge zu spalten, 5 min in 0,4 M NaOH und zur Neutralisierung anschließend in SSPE 3x

geschwenkt wurden. Die DNA wurde anschließend durch UV-Strahlung (UV-Transilluminator; 0,3 Joule/m<sup>2</sup>) auf der Membran fixiert.

Zur Prähybridisierung wurden die mit einer caseinhaltigen Lösung abgesättigten Membranen 30 min in eine Tetramethylammoniumchloridlösung (TMACl 5M, Tris 2M pH 8, SDS 10%, EDTA 0,4M pH 8) bei 50°C inkubiert und nach Zugabe spezifischer, am 3'-Ende mit Digoxigenin-11-2',3'-dideoxuridin-5'-triphosphat markierter Oligonukleotide in derselben Lösung bei gleicher Temperatur hybridisiert. Der spezifische Waschschrift erfolgte bei für das jeweilige Oligonukleotid spezifischen Zeiten und Temperaturen in Tetramethylammoniumchlorid. Zur Detektion der markierten Oligonukleotide (nach Auswaschen des TMACl) wurden die Membranen in einer Pufferlösung mit einem Antikörper-Enzym-Konjugat (Anti-Digoxigenin-Fab-Fragmente, gekoppelt mit dem Enzym Alkalische Phosphatase; Boehringer Mannheim) 1 h bei 37°C inkubiert. Daraufhin erfolgte eine 15-minütige Inkubation mit der Chemilumineszenz-Lösung CSPD (Boehringer Mannheim). Schließlich wurden die Membranen in Klar-sichtfolie eingeschweißt und mit einem Röntgenfilm in einer Röntgenfilmkassette exponiert. Die positiven Signale ließen sich nach der Entwicklung des Films an den Stellen ablesen, an denen Amplifikat mit dem spezifischen Oligonukleotid hybridisiert hatte.

## 2.5 Statistische Analyse

Der Autoantikörperstatus wurde als negativ (n = 1532) oder als positiv (wenn ein oder mehr Autoantikörper in mindestens zwei aufeinander folgenden Blutproben positiv waren; n = 78) festgelegt. Die drei Kinder, bei denen erstmalig Insel-Autoantikörper in der letzten Blutprobe aufgetreten sind, welche jedoch noch nicht durch eine weitere Untersuchung bestätigt wurden, gelten bis zum Zeitpunkt ihrer letzten Antikörper-negativen Blutprobe als negativ bzgl. des Insel-Autoantikörper-Status. Bei den 78 Autoantikörper-positiven Kindern wurde für die Life-table-Analyse das Alter bei der ersten positiven Serumprobe als Zeitpunkt für das Auftreten von Insel-Autoimmunität verwendet.

Im Hinblick auf die exklusive Stillzeit wurden die Kinder in Gruppen mit einer ausschließlichen Stillzeit von 0 Wochen, 0,1-3 Monate, 3,1-6 Monate und > 6 Monate zusammengefasst. Diese Kategorien ähneln denjenigen von vorangegangenen Stu-

dien (Coupper, 1999; Norris, 1996a; Gerstein, 1994; Borch-Johnsen, 1984). Bei der gesamten Stillzeit wurde zwischen 0, 0,1-3, 3,1-6, 6,1-12 Monate und > 12 Monate differenziert. Die Zeitpunkte der Einführung von glutenfreier Beikost und von glutenhaltiger Nahrung wurden in Gruppen folgendermaßen zusammengefasst: vor dem vollendeten 3. Lebensmonat, 3,1-6. Monat, 6,1-12. Monat und nach dem vollendeten 12. Lebensmonat.

Zur Validitätskontrolle der Antworten wurden die Angaben über das erstmalige Zufüttern mit Angaben zur Dauer der exklusiven Stillzeit verglichen. Ferner wurden die Angaben, die die Eltern der Kinder in den telefonischen Befragungen machten, anhand der prospektiven Angaben, die in den Fragebögen gemacht wurden, mittels Pearson Korrelationskoeffizient überprüft. Das kumulative Risiko, Inselzell- oder Transglutaminase-Antikörper zu entwickeln, wurde mittels Life-Table-Analyse (Kaplan Meier) bestimmt und wird mit Prozent  $\pm$  Standardfehler aufgeführt. Die Signifikanz zwischen verschiedenen Gruppen wurde über den log-rank-Test bestimmt. Die Hazard ratio wurde über die Cox-Analyse bestimmt. Die 95%igen Konfidenzintervalle wurden für die Hazard ratios und für die mittlere Stillzeit festgelegt.

Da das Alter des ersten Auftretens von Insel-Autoantikörpern nicht exakt festgelegt werden kann, weil sich die Kinder ab dem Alter von zwei Jahren im dreijährigen Abstand einer Antiköpertestung unterziehen, wurden die Kinder im Alter von zwei Jahren als Insel-Autoantikörper-positiv bzw. -negativ klassifiziert.

Alle statistischen Analysen wurden mit dem „Statistical Package for Social Science“ (SPSS, Chicago, IL) durchgeführt.

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Ernährungsgewohnheiten der Kinder**

##### **3.1.1 Stillen**

Von den 1610 beobachteten Kindern konnten die Eltern von 1445 Kindern auswertbare Angaben zu den Stillgewohnheiten machen.

299 Kinder (20,7%) wurden nie gestillt. Von den restlichen 1146 Kindern wurden 1014 Kinder (88,5%) über einen Zeitraum von maximal 50 Wochen ausschließlich mit Muttermilch ernährt (Abb. 1). Den übrigen 132 der 1146 gestillten Kinder (11,5%) wurde von Geburt an industrielle Säuglingsmilchnahrung zugefüttert. 60 Kinder (4,2%) wurden nur ein oder zwei Wochen ausschließlich mit Muttermilch gefüttert. Diese 60 Kinder bilden zusammen mit den nie bzw. nie ausschließlich gestillten Kindern die im linken Abbildungsteil dargestellte Gruppe von 491 Kindern. Die mittlere exklusive Stilldauer lag bei  $11,3 \pm 0,3$  Wochen.

## Anzahl der Kinder

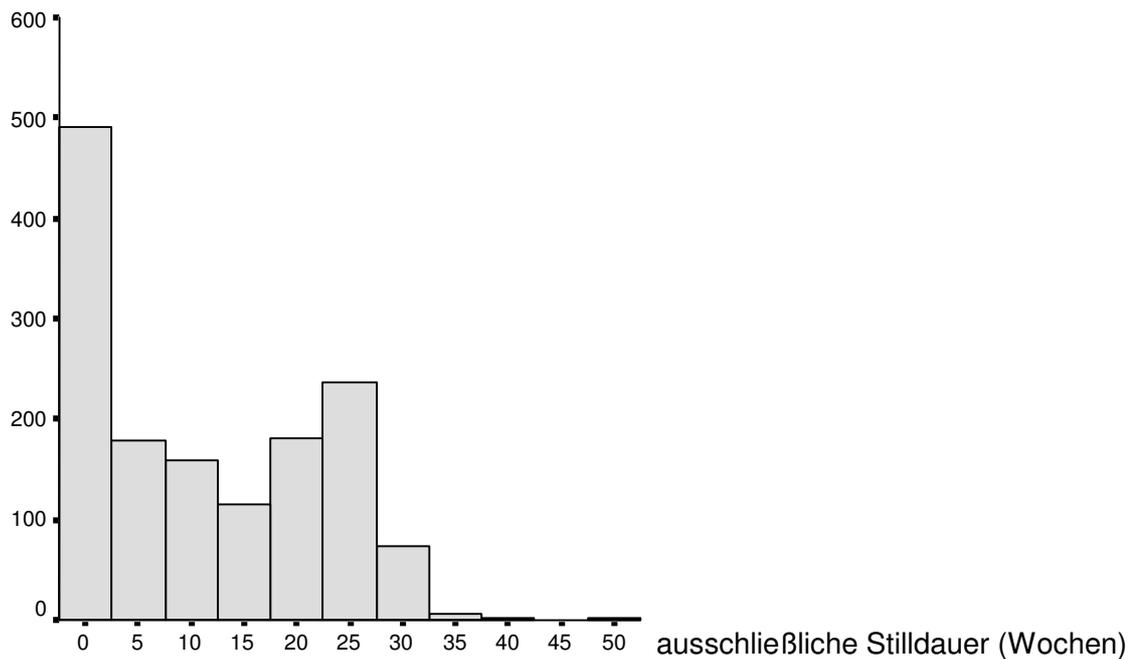


Abbildung 1: Überblick über die ausschließliche Stilldauer der 1445 untersuchten Kinder

Die gesamte Stilldauer (Wochen, in denen das Kind täglich gestillt wurde, auch wenn bereits zusätzlich industrielle Säuglingsmilchnahrung oder Beikost zugefüttert wurde) erstreckte sich bei den 1146 gestillten Kindern von mindestens einer bis maximal 116 Wochen (Abb. 2). Dabei erhielten 132 Kinder nur für eine bis fünf Wochen Muttermilch, woraus sich zusammen mit den 299 nie gestillten Kindern die im linken Abbildungsteil ersichtliche Gruppe von 431 Kindern ergibt, die insgesamt zwischen 0 und fünf Wochen gestillt wurde. Die mittlere gesamte Stilldauer lag bei  $18,1 \pm 0,4$  Wochen. 99,0% der Befragten fütterten ihr Kind längstens 52 Wochen mit Muttermilch.

## Anzahl der Kinder

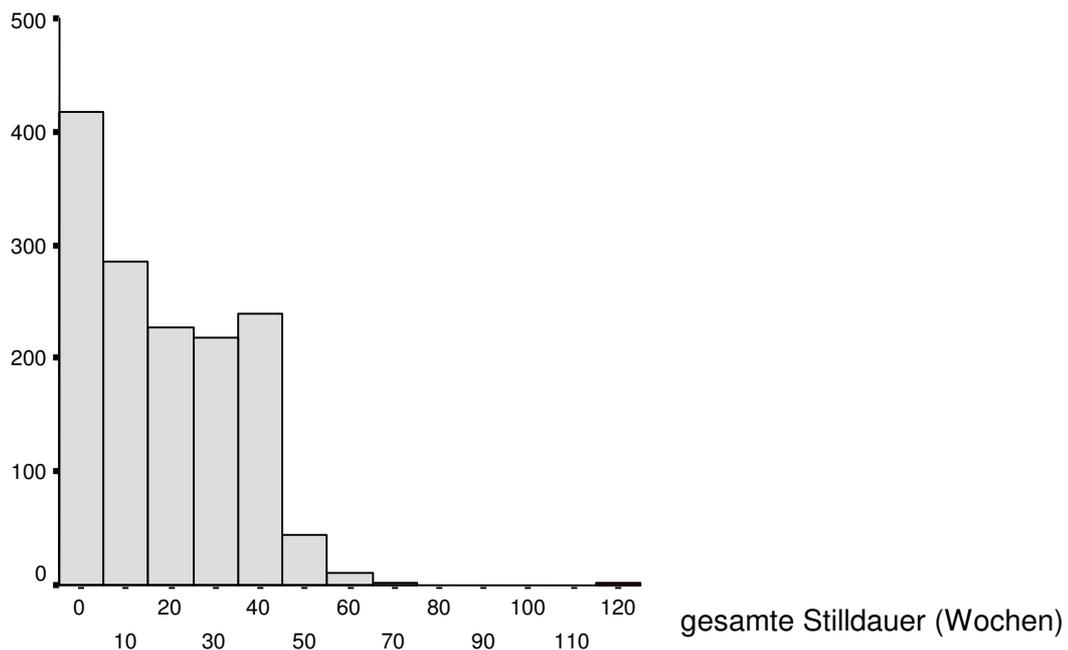


Abbildung 2: Überblick über die gesamte Stilldauer der 1445 untersuchten Kinder

Die durchschnittliche Stillzeit ohne Zufüttern (= ausschließliches Stillen) lag bei Kindern diabetischer Mütter bei  $10,2 \pm 0,3$  Wochen verglichen mit  $13,5 \pm 0,5$  Wochen, wenn der Vater des Kindes Diabetiker war, und unterschied sich damit nicht signifikant. Kinder, deren Mütter an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, hatten eine signifikant kürzere Gesamtstillzeit verglichen mit Kindern nicht-diabetischer Mütter. Als durchschnittliche gesamte Stilldauer konnten für Kinder diabetischer Mütter  $16,3 \pm 0,5$  Wochen versus  $21,5 \pm 0,7$  Wochen für Kinder nicht-diabetischer Mütter ermittelt werden ( $p < 0,001$ ). Waren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt, wurden die Kinder durchschnittlich über  $15,8 \pm 2,1$  Wochen ausschließlich mit Muttermilch ernährt. Die gesamte Stilldauer lag bei diesen Kindern bei  $21,7 \pm 2,9$  Wochen.

In den beiden folgenden Tabellen 1 und 2 werden die ausschließliche bzw. die gesamte Stilldauer von Kindern mit diabetischen Müttern, mit denen von Kindern diabetischer Väter und Kindern mit zwei diabetischen Elternteilen miteinander verglichen.

Tabelle 1: Vergleich der ausschließlichen Stilldauer bei Kindern diabetischer Mütter, Kinder diabetischer Väter und Kinder mit zwei diabetischen Elternteilen

<b>ausschließliche Stilldauer</b>	Kinder diabetischer Mütter n (%*)	Kinder diabetischer Väter n (%*)	Kinder mit zwei diabetischen Elternteilen n (%)
0 Wochen/Monate	314 (33,8%)	121 (22,3%)	4 (14,8%)
0,1 - 3 Monate	270 (29,0%)	135 (24,9%)	6 (22,2%)
3,1 - 6 Monate	287 (30,9%)	244 (45,0%)	13 (48,1%)
6,1 - 12 Monate	59 (6,3%)	42 (7,7%)	4 (14,8%)
unbekannt	108	58	1

\*unbekannte Daten wurden bei der Berechnung der Prozentangaben ausgeschlossen

Kinder, deren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, wurden sowohl in die Berechnung „Kinder diabetischer Mütter“ als auch in die Berechnung „Kinder diabetischer Väter“ einbezogen.

Tabelle 2: Vergleich der gesamten Stilldauer bei Kindern diabetischer Mütter, diabetischer Väter und Kinder mit zwei diabetischen Elternteilen

<b>gesamte Stilldauer</b>	Kinder diabetischer Mütter n (%*)	Kinder diabetischer Väter n (%*)	Kinder mit zwei diabetischen Elternteilen n (%)
0 Wochen/Monate	227 (24,2%)	76 (14,3%)	4 (14,8%)
0,1 - 3 Monate	271 (28,9%)	124 (23,3%)	5 (18,5%)
3,1 - 6 Monate	171 (18,2%)	106 (19,9%)	5 (18,5%)
6,1 - 12 Monate	263 (27,9%)	221 (41,5%)	13 (48,1%)
> 12 Monate	7 (0,7%)	6 (1,1%)	0
unbekannt	99	67	1

\*unbekannte Daten wurden bei der Berechnung der Prozentangaben ausgeschlossen

Kinder, deren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, wurden sowohl in die Berechnung „Kinder diabetischer Mütter“ als auch in die Berechnung „Kinder diabetischer Väter“ einbezogen.

### 3.1.2 Zufütterung von Beikost

62 (5,2%) der 1200 Kinder, deren Eltern Angaben zur Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung) machen konnten, erhielten bereits vor dem Alter von drei Monaten Beikost, beispielsweise Reis, Gemüse oder Obst gefüttert (Abb. 3). 625 (52,1%) Kinder erhielten zwischen dem 3,1 und 6. Lebensmonat zum ersten Mal Beikost, 506 Kinder (42,2%) zwischen dem 6,1 - 12. Monat. Sieben Kinder (0,6%) wurden mindestens bis zum vollendeten ersten Lebensjahr nur mit Muttermilch oder industrieller Säuglingsmilchnahrung ernährt und erhielten somit frühestens im Alter von zwölf Monaten Beikost zugefüttert.

Prozent der Kinder

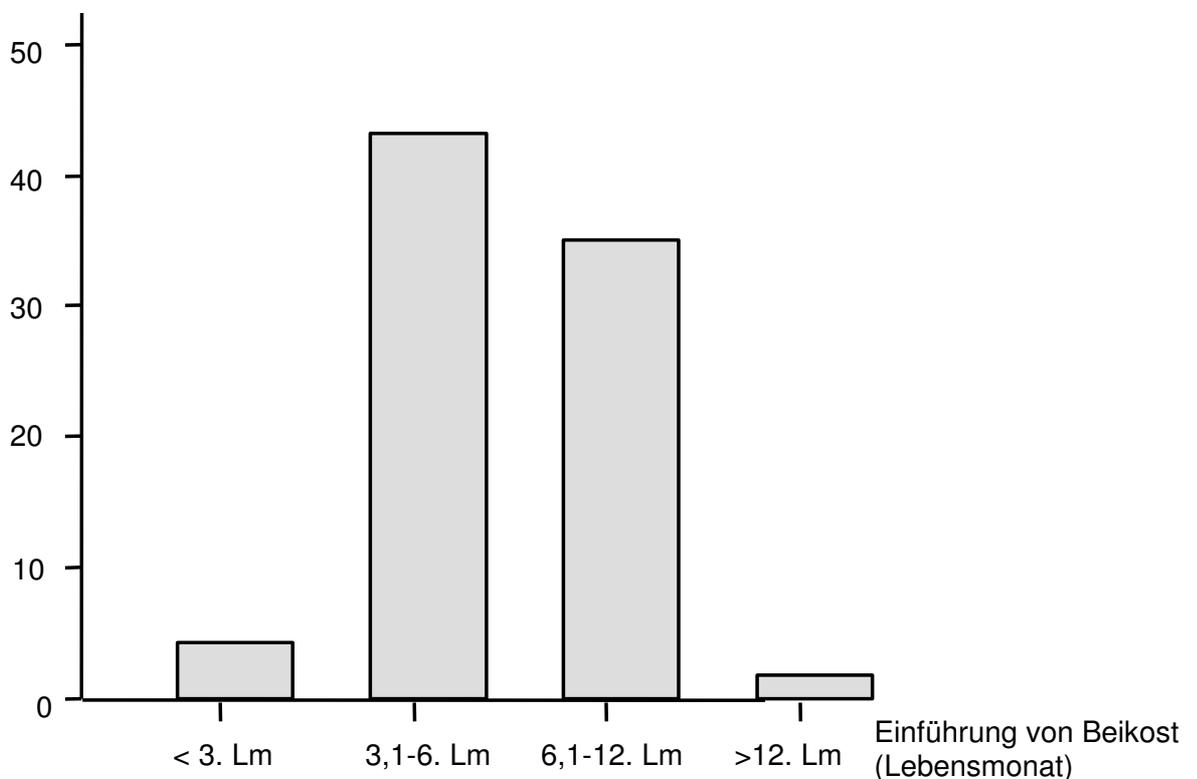


Abbildung 3: Alter bei Einführung von Beikost (glutenfreie und/oder glutenhaltige Nahrung) bei 1200 Kindern

1147 Eltern konnten Angaben zum Zeitpunkt der ersten Gabe glutenhaltiger Nahrung bei ihren Kindern machen (Abb. 4). 17 (1,5%) der 1147 Kinder wurde glutenhaltige Kost vor dem vollendeten 3. Lebensmonat gefüttert. 25 Kinder (2,2%) erhielten vor dem vollendeten ersten Lebensjahr keine glutenhaltige Nahrung. Der Zeitraum, in dem die meisten Eltern erstmals glutenhaltige Kost fütterten, lag zwischen dem 3,1. und 12. Monat (3,1-6. Monat: 381 Kinder entspricht 33,2%; 6,1.-12. Monat: 724 Kinder entspricht 63,1%).

Prozent der Kinder

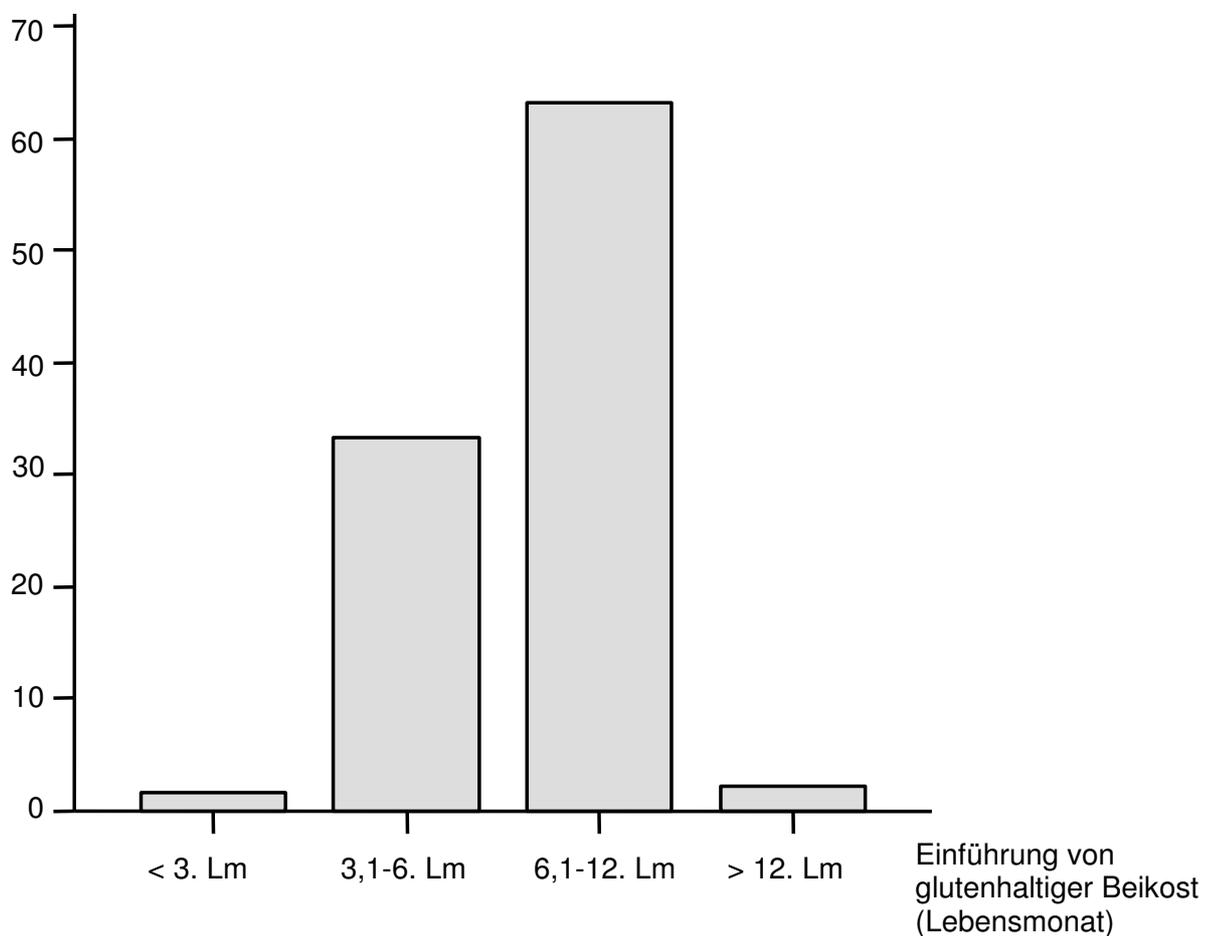


Abbildung 4: Alter bei Einführung von glutenhaltigen Nahrung bei 1147 Kindern

Wie erwartet korrelierte das Alter, in dem Beikost bzw. glutenhaltige Nahrung eingeführt wurden mit der Dauer der ausschließlichen Stillzeit ( $r = 0,48$  und  $r = 0,93$ ;  $p < 0,0001$ ).

Das Alter bei Einführung von Beikost allgemein bzw. glutenhaltigen Nahrungsmitteln bei Kindern diabetischer Mütter unterschied sich nicht signifikant zum Alter bei Kindern diabetischer Väter.

In den Tabellen 3 und 4 ist das Alter von Kindern diabetischer Mütter, Kindern diabetischer Väter und von Kindern mit zwei diabetischen Elternteilen bei Einführung von Beikost im Allgemeinen bzw. glutenhaltigen Nahrungsmitteln gegenübergestellt. Kinder, deren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, wurden sowohl in die Berechnung bei diabetischen Müttern als auch bei diabetischen Vätern einbezogen und zum Vergleich auch getrennt dargestellt.

Tabelle 3: Alter bei Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung) bei Kindern diabetischer Mütter, Kindern diabetischer Väter und Kindern mit zwei diabetischen Elternteilen

<b>Einführung von Beikost (glutenfrei u./o. glutenhaltig) (Lebensmonat)</b>	Kinder diabetischer Mütter; n (%*)	Kinder diabetischer Väter; n (%*)	Kinder mit zwei diabetischen Elternteilen; n (%*)
vor Ende des 3. Monats	62 (6,3%)	17 (3,5%)	1 (4,5%)
3,1 - 6. Monat	625 (63,0%)	247 (51,2%)	11 (50,0%)
6,1 - 12. Monat	300 (30,2%)	215 (44,6%)	9 (40,9%)
> 12. Monat	5 (0,5%)	3 (0,6%)	1 (4,5%)

\*unbekannte Daten wurden bei der Berechnung der Prozentangaben ausgeschlossen

Kinder, deren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, wurden sowohl in die Berechnung „Kinder diabetischer Mütter“ als auch in die Berechnung „Kinder diabetischer Väter“ einbezogen.

Tabelle 4: Alter bei Einführung von glutenhaltiger Nahrung bei Kindern diabetischer Mütter, Kindern diabetischer Väter und Kindern mit zwei diabetischen Elternteilen

<b>Einführung von glutenhaltiger Nahrung (Lebensmonat)</b>	Kinder diabetischer Mütter; n (%*)	Kinder diabetischer Väter; n (%*)	Kinder mit zwei diabetischen Elternteilen; n (%*)
vor Ende des 3. Monats	13 (1,8%)	4 (0,9%)	0%
3,1 - 6. Monat	236 (33,4%)	151 (32,8%)	6 (33,3%)
6,1 - 12. Monat	443 (62,7%)	292 (63,6%)	11 (61,1%)
> 12. Monat	14 (2,0%)	12 (2,6%)	1 (5,6%)

\*unbekannte Daten wurden bei der Berechnung der Prozentangaben ausgeschlossen

Kinder, deren beide Elternteile an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, wurden sowohl in die Berechnung „Kinder diabetischer Mütter“ als auch in die Berechnung „Kinder diabetischer Väter“ einbezogen.

## 3.2 Entwicklung von Insel-Autoimmunität

In vorangegangenen Studien sowie im Rahmen von Untersuchungen der BABYDIAB-Studie hat sich gezeigt, dass der autoimmune Zerstörungsprozess schon vor der eigentlichen Manifestation des Typ 1 Diabetes, also im prädiabetischen Stadium, durch diabetesspezifische Insel-Autoantikörper nachgewiesen werden kann. Dabei scheint das Risiko an Diabetes zu erkranken, vor allem von der Zahl der positiven Insel-Autoantikörper abzuhängen. So führen multiple Insel-Autoantikörper deutlich häufiger zur Manifestation von Typ 1 Diabetes, als das Vorhandensein eines Insel-Autoantikörpers.

In den folgenden Kapiteln der vorliegenden Arbeit wird deshalb das Auftreten von Insel-Autoantikörpern bei unterschiedlichen Ernährungsgewohnheiten der Kinder betrachtet.

Das kumulative Risiko, bis zum Alter von 5 Jahren mindestens einen persistierenden Insel-Autoantikörper (IAA, GADA und/oder IA-2A) zu entwickeln, lag bei den 1610 Kindern bei 5,6% (SE 0,7%). Das Risiko der untersuchten Kinder, im Alter von 5 Jahren mehrere Insel-Autoantikörper zu entwickeln, betrug 3,3% (SE 0,5%).

Bei 20 der 78 Kinder, die für mindestens einen Insel-Autoantikörper positiv waren, kam es während dem Beobachtungszeitraum zur Manifestation der Erkrankung. Keines der Insel-Autoantikörper-negativen Kinder entwickelte einen Typ 1 Diabetes.

### 3.2.1 Einfluss der Stillgewohnheiten auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität

Im Hinblick auf die ausschließliche oder gesamte Stilldauer wurden keine signifikanten Unterschiede bzgl. des Risikos, Insel-Autoantikörper zu entwickeln, entdeckt:

Die durchschnittliche Dauer der ausschließlichen bzw. gesamten Stillzeit betrug 11,4 Wochen (95% Konfidenzintervall 11,2-11,7) bzw. 18,2 Wochen (95% Konfidenzintervall 17,8-18,6) bei Insel-Autoantikörper-negativen Kindern und 11,3 Wochen (95% Konfidenzintervall 11,1-11,6) bzw. 18,1 Wochen (95% Konfidenzintervall 17,7-18,5) bei Insel-Autoantikörper-positiven Kindern.

Wie in Tabelle 5 und Abbildung 5 ersichtlich, unterscheiden sich die kumulativen Risiken der Insel-Autoantikörper-Entwicklung bei Kindern, die nie ausschließlich gestillt

wurden ( $4,3\% \pm 1,1\%$ ), im Vergleich zu denen, die bis zu 3 Monaten ( $6,4\% \pm 1,4\%$ ), 3,1 bis 6 Monate ( $6,5\% \pm 1,2\%$ ) oder länger als 6 Monate ( $8,7\% \pm 3,6\%$ ) nur Muttermilch erhielten, nicht signifikant.

Zwischen den Gruppen Insel-Autoantikörper-negativer und Insel-Autoantikörper-positiver Kinder gab es keine signifikanten Unterschiede bzgl. der Anzahl der Kinder, die vor dem vollendeten 3. Monat andere Nahrung als Muttermilch erhielten, also Kinder, die nicht gestillt wurden oder eine ausschließliche Stilldauer hatten, die kürzer als 3 Monate war ( $57,4\%$  versus  $53,3\%$ ).

Das Risiko bei Kindern, die vor dem vollendeten 3. Lebensmonat ausschließlich industriell hergestellte Säuglingsmilchnahrung jedoch noch keine glutenfreie Beikost wie z.B. Karotten erhielten, war mit dem Risiko der Kinder vergleichbar, die für mindestens drei Monate nur gestillt wurden ( $5,2\%$  versus  $5,7\%$ ).

Da Mütter, die an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, ihre Kinder insgesamt über einen kürzeren Zeitraum stillten als Mütter ohne diese Erkrankung, wurden diese getrennt analysiert (Tab. 5 und 6). Bei Kindern diabetischer Mütter, die nie ausschließlich gestillt wurden, war die Häufigkeit von Insel-Autoantikörpern im Alter von fünf Jahren nicht signifikant unterschiedlich im Vergleich zu Kindern diabetischer Mütter, die über einen beliebigen Zeitraum gestillt wurden ( $3,8\%$  versus  $5,9\%$ ). Kinder, die länger als sechs Monate ausschließlich gestillt wurden, hatten mit  $10,4\%$  ein tendenziell, jedoch nicht signifikant erhöhtes Risiko für Insel-Autoantikörper (Tab. 5).

Bei Kindern diabetischer Väter wurde kein signifikanter Einfluss der Stilldauer auf das Risiko für Insel-Autoantikörper festgestellt (Tab. 5).

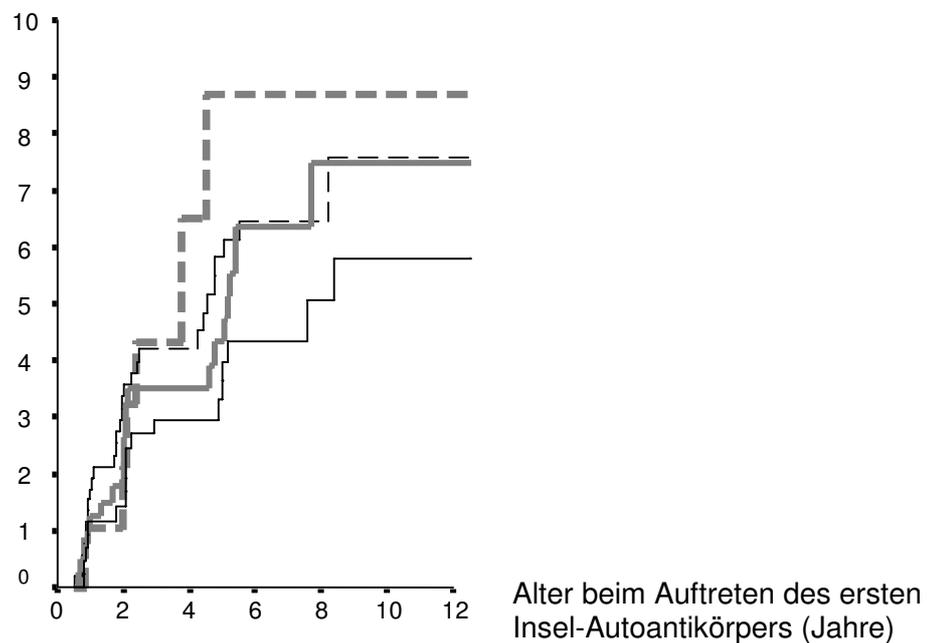
Tabelle 5: Kumulatives Risiko (Life table-Analyse) und Hazard ratio für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern in Abhängigkeit von der ausschließlichen Stilldauer

	Insel-Ak positive Kinder (n)	Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (%± SE)	Hazard ratio (95%-Konfi- denzintervall)	<i>P</i> <sup>†</sup>
<b>ausschließliche Stilldauer</b>				
<b>gesamte Population</b>				<b>0,44</b>
nie ausschl. gestillt (n = 431)	18	4,3 ± 1	0,7 (0,4-1,3)	0,22
0,1 - 3 Monate (n = 399)	21	6,4 ± 1	0,9 (0,5-1,6)	0,82
3,1 - 6 Monate (n = 518)	29	6,5 ± 1	1*	
> 6 Monate (n = 97)	6	8,7 ± 4	1,2 (0,5-2,8)	0,74
unbekannt (n = 165)	4	3,1 ± 2	0,5 (0,2-1,3)	0,14
<b>Kinder diabetischer Mütter</b>				
<b>gesamte Population</b>				<b>0,29</b>
nie ausschl. gestillt (n = 314)	12	3,8 ± 1	0,7 (0,3-1,4)	0,26
0,1 - 3 Monate (n = 270)	14	5,9 ± 2	1,0 (0,5-1,9)	0,86
3,1 - 6 Monate (n = 287)	15	6,1 ± 2	1*	
> 6 Monate (n = 59)	5	10,4 ± 5	1,7 (0,6-4,5)	0,34
unbekannt (n = 108)	2	2,8 ± 2	0,4 (0,1-1,5)	0,16
<b>Kinder diabetischer Väter</b>				
<b>gesamte Population</b>				<b>0,84</b>
nie ausschl. gestillt (n = 121)	6	5,5 ± 2	0,6 (0,3-1,6)	0,36
0,1 - 3 Monate (n = 135)	8	7,8 ± 3	0,8 (0,4-1,9)	0,68
3,1 - 6 Monate (n = 244)	17	8,8 ± 2	1*	
> 6 Monate (n = 42)	2	7,8 ± 6	0,7 (0,2-3,1)	0,65
unbekannt (n = 58)	2	3,5 ± 2	0,5 (0,1-2,3)	0,40

\* Referenz-Kategorie für die Berechnung des Cox proportional Hazard Modells

*P*<sup>†</sup>: *P*-Werte wurden im Vergleich zur Referenz-Kategorie berechnet

Frequenz Insel-Autoantikörper-positiver Kinder (%)



nie gestillt	431	385	281	30	—
0,1-3 Monate	399	344	231	19	- - -
3,1-6 Monate	518	466	290	83	- · - ·
> 6 Monate	97	90	43	18	- - - -

Abbildung 5: Kumulatives Risiko für Insel-Autoantikörper bei 1445 Kindern in Abhängigkeit von der ausschließlichen Stilldauer

Ferner konnte kein Zusammenhang zwischen der gesamten Stilldauer und dem Risiko Insel-Autoantikörper zu entwickeln, festgestellt werden (Tab. 6, Abb. 6): Das Risiko für Insel-Autoantikörper unterschied sich bei Kindern, die keine Muttermilch erhalten hatten ( $3,9\% \pm 1\%$ ), nicht signifikant von dem Risiko bei Kindern, die bis zu 3 Monaten ( $5,2\% \pm 1\%$ ), 3,1 bis 6 Monate ( $7,1\% \pm 2\%$ ), 6,1 bis 12 Monate ( $7,1\% \pm 1\%$ ) oder länger als 12 Monate ( $0\%$ ) insgesamt gestillt wurden.

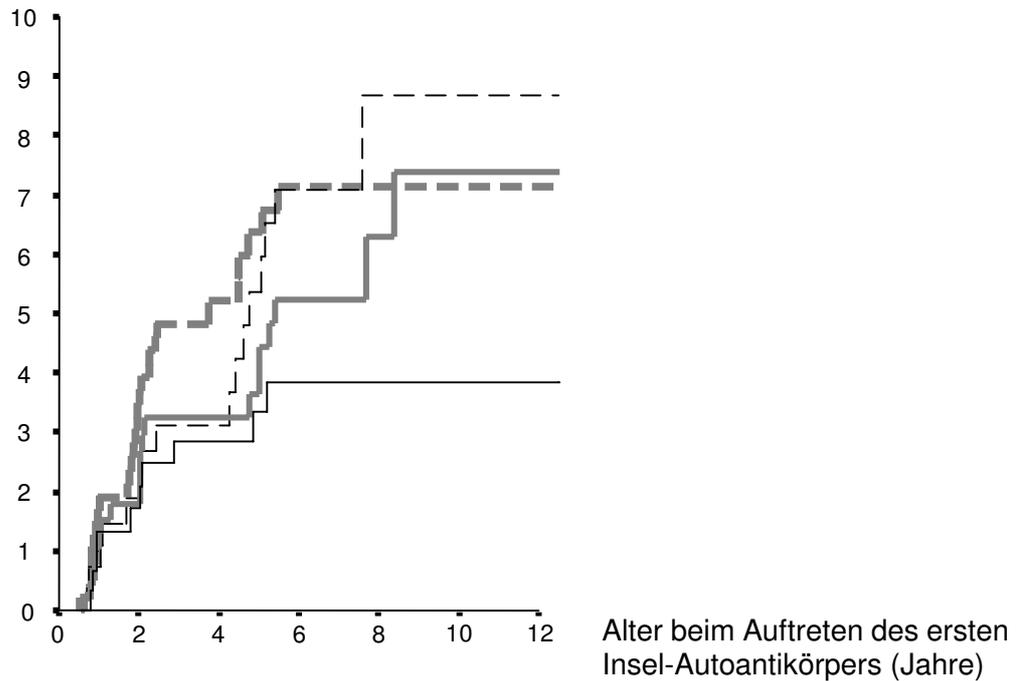
Auch eine Aufteilung der Kinder in Abhängigkeit vom diabetischen Elternteil erbrachte keine signifikanten Unterschiede in der Frequenz von Insel-Autoantikörpern bei unterschiedlichen gesamten Stilldauern (Tab. 6): Bei Kindern diabetischer Mütter lag das Risiko für Insel-Autoantikörper bei  $3,2\% \pm 1\%$ , Kinder diabetischer Väter hatten eine Insel-Autoantikörper-Frequenz von  $5,7\% \pm 3\%$ , wenn sie nie gestillt wurden. Bei

einer gesamte Stilldauer zwischen 0,1 und 3 Monaten traten bei Kindern diabetischer Mütter bei  $4,9\% \pm 1\%$  Insel-Autoantikörper auf, bei Kindern diabetischer Väter und gleichlanger Gesamtstilldauer lag die Frequenz bei  $6,7\% \pm 3\%$ . Wurden die Kinder insgesamt zwischen 3,1 und 6 Monaten gestillt, so lag das Risiko für Insel-Autoantikörper bei  $6,6\% \pm 2\%$ , wenn die Mutter an Typ 1 Diabetes erkrankt und bei  $9,2\% \pm 3\%$ , wenn es beim Vater zur Krankheitsmanifestation gekommen war. Erstreckte sich die gesamte Stilldauer auf einen Zeitraum zwischen 6,1 und 12 Monate, so ergab sich bei Kindern diabetischer Mütter eine Frequenz von Insel-Autoantikörpern von  $7,4\% \pm 2\%$  verglichen mit  $8,8\% \pm 2\%$  bei Kindern diabetischer Väter. Bei Kindern, die insgesamt länger als ihr erstes Lebensjahr gestillt wurden, traten unabhängig vom Geschlecht des erkrankten Elternteils bis zum 5-Jahres-Follow-up keine Insel-Autoantikörper auf.

Tabelle 6: Kumulatives Risiko (Life table-Analyse) und Hazard ratio für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern in Abhängigkeit von der gesamten Stilldauer

		<b>Insel-Ak positive Kinder (n)</b>	<b>Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)</b>	<b>Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)</b>	<b>P†</b>
<b>gesamte Stilldauer</b>					
<b>gesamte Population</b>					<b>0,38</b>
nie gestillt	(n = 299)	10	3,9 ± 1	0,6 (0,1-5,4)	0,14
0,1 - 3 Monate	(n = 390)	19	5,2 ± 1	0,8 (0,4-1,6)	0,58
3,1 - 6 Monate	(n = 272)	16	7,1 ± 2	1*	
6,1 - 12 Monate	(n = 471)	28	7,1 ± 1	1,1 (0,6-2,0)	0,85
> 12 Monate	(n = 13)	1	0	1,2 (0,2-8,7)	0,89
unbekannt	(n = 165)	4	3,3 ± 2	0,5 (0,2-1,4)	0,16
<b>Kinder diabetischer Mütter</b>					<b>0,26</b>
nie gestillt	(n = 227)	6	3,2 ± 1	0,4 (0,01-5,3)	0,12
0,1 - 3 Monate	(n = 271)	13	4,9 ± 1	0,8 (0,4-1,9)	0,66
3,1 - 6 Monate	(n = 171)	10	6,6 ± 2	1*	
6,1 - 12 Monate	(n = 263)	17	7,4 ± 2	1,1 (0,5-2,5)	0,71
> 12 Monate	(n = 7)	1	0	2,3 (0,3-17,9)	0,43
unbekannt	(n = 99)	2	3,3 ± 2	0,4 (0,1-1,8)	0,22
<b>Kinder diabetischer Väter</b>					<b>0,92</b>
nie gestillt	(n = 76)	4	5,7 ± 3	0,7 (0,2-2,6)	0,65
0,1 - 3 Monate	(n = 124)	7	6,7 ± 3	0,8 (0,3-2,4)	0,73
3,1 - 6 Monate	(n = 105)	7	9,2 ± 3	1*	
6,1 - 12 Monate	(n = 216)	15	8,8 ± 2	1,0 (0,4-2,6)	0,87
> 12 Monate	(n = 6)	0	0	0	0,98
unbekannt	(n = 67)	2	3,2 ± 2	0,5 (0,1-2,4)	0,38

Frequenz Insel-Autoantikörper-positiver Kinder (%)



nie gestillt	299	260	193	22	—
0,1-3 Monate	390	338	242	18	—
3,1-6 Monate	272	242	163	16	- -
> 6 Monate	484	443	254	16	- . -

Abbildung 6: Kumulatives Risiko für Insel-Autoantikörper bei 1445 Kinder in Abhängigkeit von der gesamten Stilldauer

(Kinder mit einer gesamten Stilldauer von 6,1 - 12 Monate und Stilldauer von mehr als 12 Monaten wurden in der Abbildung zu einer Gruppe zusammengefasst.)

### 3.2.2 Einfluss der Einführung von Beikost auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität

Neben der oben diskutierten unterschiedlich lange dauernden Ernährung des Säuglings mit Muttermilch und der Gabe von industrieller Säuglingsmilchnahrung wird auch vermutet, dass die im ersten Lebensjahr gefütterte Beikost Einfluss auf die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern hat.

Im Folgenden wird bei den untersuchten Kindern die Entwicklung von Diabetes-assoziierten Autoantikörpern im Alter von fünf Jahren abhängig vom Zeitpunkt der erstmaligen Gabe von Beikost und von der Art der Beikost betrachtet. Dabei wird zunächst im Kapitel 3.2.2.1 nicht unterschieden, ob die gefütterte Beikost glutenfrei oder glutenhaltig war. Ergänzend wird im Kapitel 3.2.2.2 das mit glutenhaltigen Nahrungsmitteln verbundene Risiko für Diabetes-assoziierte Autoimmunität näher erörtert. Im Anschluss wird die besonders häufig diskutierte Ernährung in den ersten drei Lebensmonaten und das damit verbundene Risiko für Insel-Autoimmunität dargestellt.

#### 3.2.2.1 Insel-Autoimmunität und Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung)

Bei der Betrachtung der Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreien und glutenhaltigen Nahrungsmitteln) und den damit verbundenen Risiken für eine Entwicklung von Insel-Autoantikörpern bis zum Alter von fünf Jahren ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Das Risiko für Insel-Autoantikörper lag bei Kindern, die erstmals bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat Beikost (z.B. Karottengemüse) erhielten bei 7,0% im Vergleich zu 5,3% bei Kindern, die erst im Alter von 3,1 bis 6 Monaten mit Beikost zugefüttert wurden (Tab. 7, Abb. 7). Auch bei Kindern, die mindestens ein halbes Jahr ausschließlich gestillt und somit erst nach dem vollendeten 6. Lebensmonat mit Beikost gefüttert wurden, war das Risiko für Insel-Autoantikörper mit 7,3% nicht signifikant erhöht.

Tabelle 7: Kumulatives Risiko (Life table-Analyse) und Hazard ratio für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern in Abhängigkeit von der Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung)

		<b>Insel-Ak positive Kinder (n)</b>	<b>Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)</b>	<b>Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)</b>	<b>P<sup>†</sup></b>
<b>Alter bei Einführung von Beikost (glutenfreie und/oder glutenhaltige Nahrung)</b>					
<b>gesamte Population</b>					<b>0,08</b>
< 3. Monat	(n = 62)	4	7,0 ± 3	1,3 (0,3-4,6)	0,66
3,1 - 6. Monat	(n = 625)	30	5,3 ± 1	1*	
> 6. Monat	(n = 513)	35	7,3 ± 1	1,4 (1,1-1,9)	0,15
unbekannt	(n = 410)	9	3,1 ± 1	0,6 (0,4-0,7)	0,13

\* Referenz-Kategorie für die Berechnung des Cox proportional Hazard Modells

P<sup>†</sup>: P-Werte wurden im Vergleich zur Referenz-Kategorie berechnet

Frequenz Insel-Autoantikörper-positiver Kinder (%)

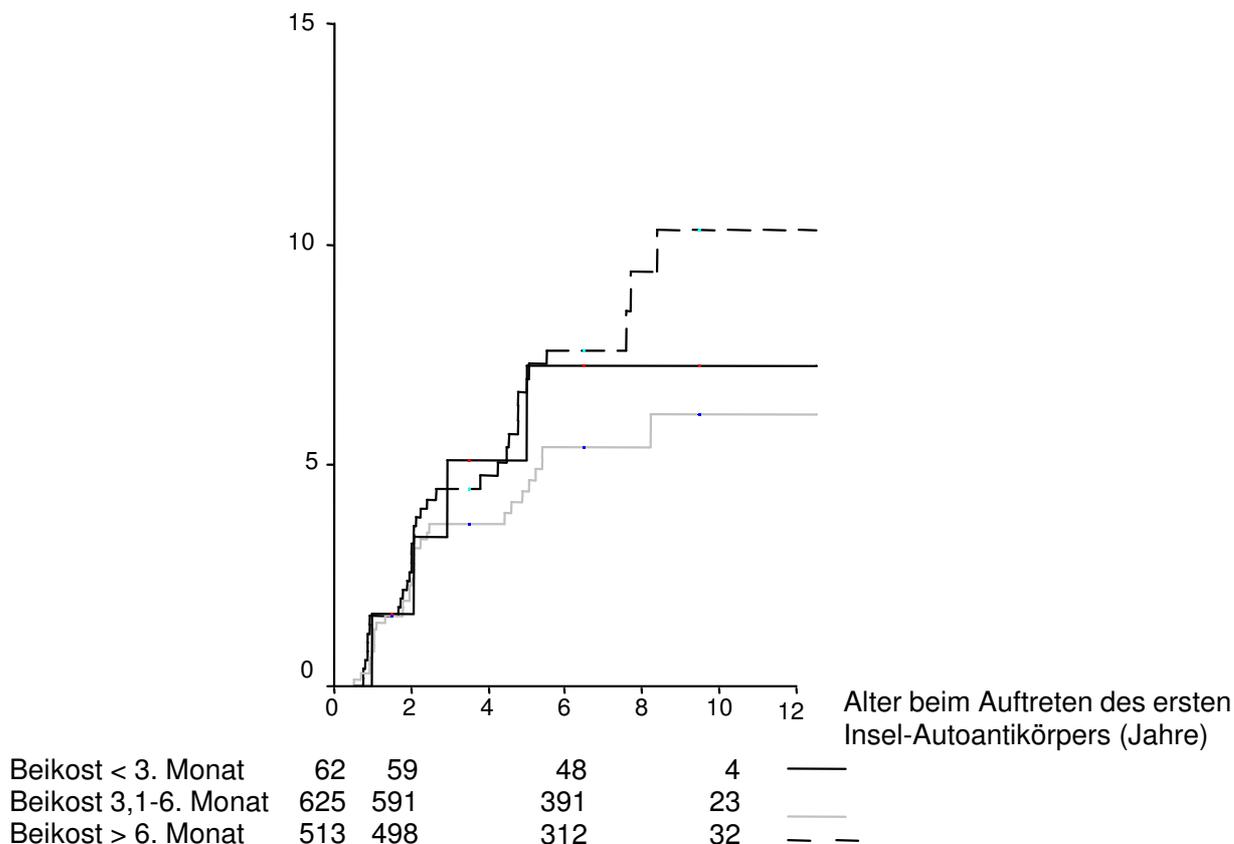


Abbildung 7: Kumulatives Risiko für Insel-Autoantikörper bei 1200 Kindern in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung)

### 3.2.2.2 Insel-Autoimmunität und Einführung von glutenhaltiger Nahrung

Eine signifikant erhöhte Frequenz für das Auftreten von mindestens einem Insel-Autoantikörpern im Alter von fünf Jahren wurde bei Kindern festgestellt, die bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat glutenhaltige Nahrung bekommen hatten, im Vergleich zu denjenigen, bei denen derartige Produkte erst nach dem 3. Monat gegeben wurden. (24,0% versus 5,6%;  $p < 0,001$ , log rank test) (Tab. 8, Abb. 8). Das Risiko ist sowohl für IAA (24% versus 4%;  $p < 0,0001$ ) als auch für GADA (24% versus 4%;  $p < 0,0001$ ) und für IA-2A (19% versus 3%;  $p < 0,0001$ ) erhöht.

Das Risiko für multiple Insel-Autoantikörpern im Alter von fünf Jahren lag bei Kindern, die vor dem vollendeten 3. Lebensmonat mit glutenhaltigen Nahrungsmitteln gefüttert

wurden, bei 24,0% verglichen mit 3,3% bei Kindern, die erst später mit Gluten ernährt wurden ( $p < 0,0001$ ).

Vier der 17 Kinder (24%), die Gluten vor dem vollendeten 3. Lebensmonat erhalten hatten, entwickelten persistierende Insel-Autoantikörper. Alle vier hatten multiple Insel-Autoantikörper; drei der Kinder entwickelten IAA, GADA und IA-2A, ein Kind hatte IAA und GADA. Drei von ihnen waren bereits im Alter von zwei Jahren für mehrere Insel-Autoantikörper positiv. Zwei der Kinder hatten diabetische Mütter, bei den anderen beiden Kindern war der Vater an Typ 1 Diabetes erkrankt. Außer diesen vier Fällen gab es keine Kinder, die vor dem vollendeten 3. Monat Beikost erhalten hatten und zugleich positiv für Insel-Autoantikörper waren. Keines der 17 Kinder, die Gluten vor dem vollendeten 3. Monat bekommen hatten, wurde zum Zeitpunkt der Einführung von glutenhaltiger Nahrung gestillt.

Das Risiko für Insel-Autoantikörper war bei Kindern, die das erste Mal zwischen dem 6. und dem 12. Lebensmonat Gluten erhalten hatten, nicht signifikant erhöht (6,0%) im Vergleich zu denen, die glutenhaltige Nahrungsmittel im Alter von 3,1 bis 6 Monaten zum ersten Mal zu Essen bekommen hatten (5,1%) (Tab. 8, Abb. 8). Keines der Kinder, die das erste Mal glutenhaltige Nahrung nach dem 12. Monat bekommen hatten, entwickelte Insel-Autoantikörper.

Aus diesen Daten ergab sich ein mit 24,0% signifikant erhöhtes Risiko für Insel-Autoimmunität, wenn den Kindern der untersuchten Population bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat Gluten gefüttert wurde, im Vergleich zu 5,6% bei einer späteren Glutengabe.

Bereits im Alter von zwei Jahren konnten signifikante Unterschiede bei der Entwicklung von Insel-Autoantikörpern festgestellt werden: Das kumulative Risiko für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern betrug im Alter von zwei Jahren 17,7% bei glutenhaltiger Ernährung vor dem vollendeten 3. Lebensmonat im Vergleich zu 3,4% bei späterer Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln.

Tabelle 8: Kumulatives Risiko (Life table-Analyse) und Hazard ratio für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern in Abhängigkeit von der Einführung von glutenhaltiger Nahrung

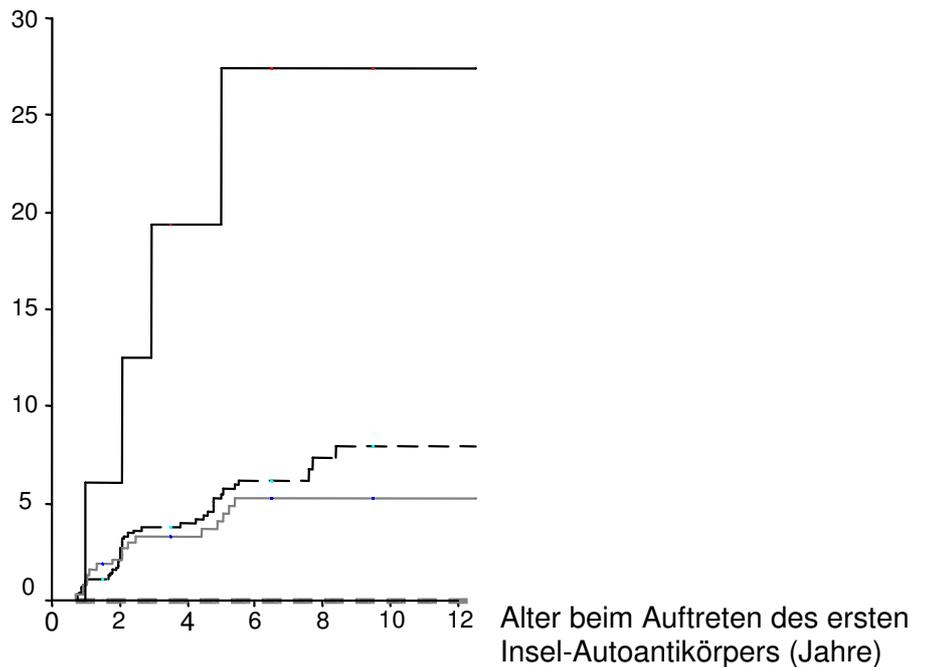
		Insel-Ak positive Kinder (n)	Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)	Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)	<i>P</i> <sup>†</sup>
<b>Alter bei Einführung glutenhaltiger Nahrung</b>					
<b>gesamte Population</b>					<b>0,05</b>
< 3. Monat	(n = 17)	4	24,0 ± 10 <sup>‡</sup>	5,1 (1,7-15,3)	0,003
3,1 - 6. Monat	(n = 381)	17	5,1 ± 1	1*	
6,1 - 12. Monat	(n = 724)	40	6,0 ± 1	1,2 (0,7-2,2)	0,50
> 12. Monat	(n = 25)	0	0	0	0,95
unbekannt	(n = 463)	17	4,7 ± 1	1,0 (0,5-2,0)	1,0

\* Referenz-Kategorie für die Berechnung des Cox proportional Hazard Modells

*P*<sup>†</sup>: P-Werte wurden im Vergleich zur Referenz-Kategorie berechnet

‡ p<0,0001 gegenüber Gluteneinführung > 3,1 Monate im log rank Test

Frequenz Insel-Autoantikörper-positiver Kinder (%)



Gluten < 3. Monat	17	17	13	2	—
Gluten 3,1 - 6. Monat	381	361	245	15	—
Gluten 6,1 - 12. Monat	724	689	448	35	- -
Gluten > 12. Monat	25	25	13	3	- · -

Abbildung 8: Kumulatives Risiko für Insel-Autoantikörper bei 1147 Kindern in Abhängigkeit vom Zeitpunkt der Einführung glutenhaltiger Nahrung

Seit Anfang der 1970er Jahre ist bekannt, dass eine starke Disposition für den Typ 1 Diabetes an Gene an der MHC-Region (MHC = Major Histocompatibility Complex; ein Teil davon: HLA = Human Leucocyte Antigen) gekoppelt ist. Nach ihrem HLA-Genotyp lassen sich die untersuchten Kinder in verschiedene Risikogruppen unterteilen, für die das Risiko für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern bzw. Typ 1 Diabetes unterschiedlich hoch ist. Dabei lassen sich HLA-Genotypen mit sehr hohem, hohem und moderatem von neutralen und protektiven HLA-Genotypen unterscheiden.

Wie sich oben gezeigt hat, gilt die frühe Einführung von glutenhaltiger Nahrung als potenter Risikofaktor für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern. Es stellt sich die Frage, ob diese Aussage allgemeingültig ist, oder Kindern mit Gluteneinführung vor dem vollendeten 3. Lebensmonat je nach ihrem HLA-Genotypen ein unterschiedlich hohes Risiko für Insel-Autoantikörper haben. In der folgenden Tabelle (Tab. 9) sind

die 17 Kinder des untersuchten Kollektivs dargestellt, die bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat mit glutenhaltiger Nahrung ernährt wurden.

Bei der Betrachtung fällt auf, dass alle vier Kinder, die bei dieser Art der Ernährung Insel-Autoantikörper entwickelten, einen Hochrisiko-HLA-Genotypen hatten. Kinder, die ebenfalls vor dem vollendeten 3. Lebensmonat Gluten erhielten, jedoch einen moderaten oder protektiven HLA-Genotypen hatten, entwickelten hingegen keine Insel-Autoantikörper.

Tabelle 9: Aufstellung der 17 Kinder, die vor dem vollendeten 3. Lebensmonat mit glutenhaltiger Nahrung gefüttert wurden

	HLA-Risiko-Gruppe	Erste Ak-positive Probe	Erste(r) Insel-Autoantikörper	Gesamte Insel-Autoantikörper	Alter bei Diabetes-Manifestation
1.	sehr hoch	9 Monate	IAA	IAA; GADA; IA-2A	
2.	sehr hoch	2 Jahre	IAA; GADA; IA-2A	IAA; GADA; IA-2A	6,8 Jahre
3.	sehr hoch	5 Jahre	IAA; GADA	IAA; GADA	
4.	sehr hoch	5 Jahre	GADA	IAA; GADA; IA-2A	
5.	moderat				
6.	protektiv				
7.	protektiv				
8.	protektiv				
9.	protektiv				
10.	protektiv				
11.	protektiv				
12.	protektiv				
13.	protektiv				
14.	protektiv				
15.	protektiv				
16.	protektiv				
17.	protektiv				

### 3.2.2.3 Insel-Autoimmunität bei verschiedener Ernährung während der ersten drei Lebensmonate

Besonders häufig wird der Einfluss der Säuglingsernährung in den ersten drei Lebensmonaten auf die Entwicklung von Diabetes-assoziiierter Autoimmunität diskutiert. Die folgende Tabelle stellt die Risiken für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern bei der gesamten Population unter Berücksichtigung der verschiedenen Ernährungsgewohnheiten der Kinder in den ersten drei Lebensmonaten dar (Tab. 10).

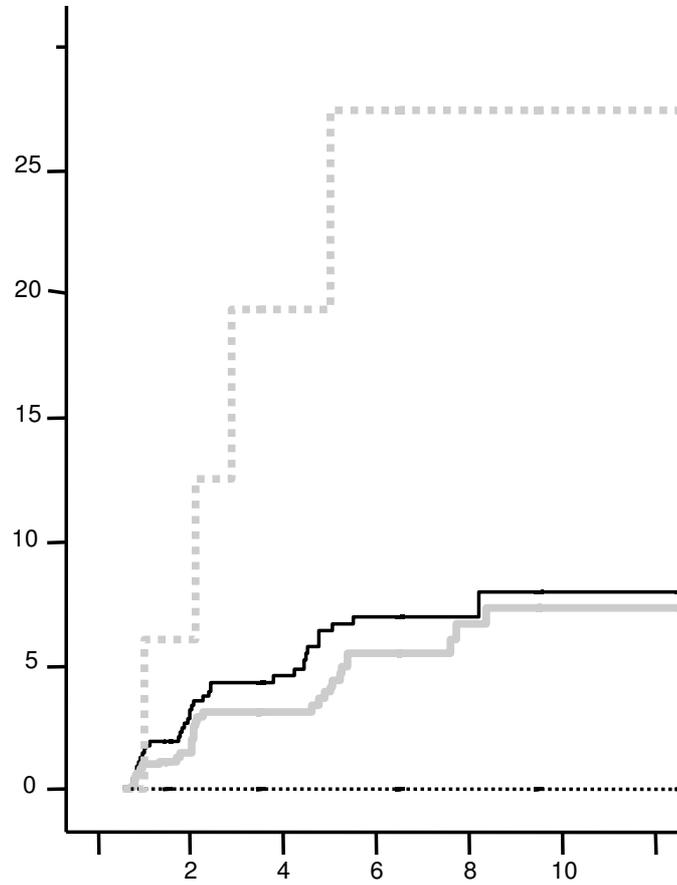
Tabelle 10: Life table-Risiko und Hazard ratio der Entwicklung von Insel-Autoantikörpern unter Berücksichtigung der Ernährungsgewohnheiten in den ersten drei Lebensmonaten

		<b>Insel-Ak positive Kinder (n)</b>	<b>Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)</b>	<b>Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)</b>	<b><i>P</i><sup>†</sup></b>
<b>Ernährung in den ersten drei Lebensmonaten</b>					
<b>gesamte Population</b>					<b>0,21</b>
ausschließlich gestillt	(n = 615)	35	6,8 ± 1	1*	
industr. Sgl.milchnahrung	(n = 607)	30	5,3 ± 1	0,8 (0,5-1,3)	0,39
glutenfreie Beikost	(n = 45)	0	0	0	0,95
glutenhaltige Beikost	(n = 17)	4	24,0 ± 10	3,7 (1,3-10,5)	0,01
unbekannt	(n = 326)	9	3,5 ± 1	0,5 (0,3-1,1)	0,08

\* Referenz, die bei der Berechnung des Cox proportional Hazard Modells gebraucht wurde

*P*<sup>†</sup>: Werte wurden im Vergleich zur Referenz der Hazard ratio berechnet

Frequenz Insel-Autoantikörper-positiver Kinder (%)



ausschließlich gestillt	615	556	332	18	—
industr. Sgl.milchnahrung	607	554	382	38	—
glutenfreie Beikost	45	43	36	3	.....
glutenhaltige Beikost	17	17	13	2	.....

Abbildung 9: Kumulatives Risiko für Insel-Autoantikörper bei 1284 Kindern in Abhängigkeit von der Ernährung in den ersten drei Lebensmonaten

### 3.3 Entwicklung von Insel-Autoimmunität bei Kindern mit erhöhtem genetischen Diabetesrisiko (HLA DRB1\*03/04-DQ8)

Nach ihrem HLA-Genotyp (HLA = Human Leucocyte Antigen) lassen sich die untersuchten Kinder in verschiedene Risikoklassen (sehr hohes, hohes, moderates Risiko, neutral, protektiv) unterteilen, für die das Risiko für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern bzw. Typ 1 Diabetes unterschiedlich hoch ist.

Die Wahrscheinlichkeit, Insel-Autoantikörper zu entwickeln, ist bei Kindern mit dem HLA-Genotyp DRB1\*03/04-DQ8 am deutlichsten erhöht (Schenker, 1999). Von den 1368 Kindern, deren HLA-Genotyp untersucht wurde, hatten 105 Kinder (7,7%) diesen Hochrisiko-Genotyp. 20 dieser 105 Kinder (19,0%) entwickelten bis zu ihrer letzten Follow-up-Untersuchung zwischen einem und drei Insel-Autoantikörpern. Bei acht Kindern (7,6%) manifestierte sich im Alter zwischen 1,3 und 8,8 Jahren Typ 1 Diabetes.

#### 3.3.1 Einfluss der Stillgewohnheiten auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität

In der Kohorte der 105 Kinder mit dem Risiko-Genotyp HLA DRB1\*03/04-DQ8 unterschieden sich weder die ausschließliche noch die gesamte Stilldauer von denen in der gesamten Kohorte der 1610 untersuchten Kinder. Die durchschnittliche Stillzeit ohne Zufütterung lag bei dieser Hochrisikogruppe zwischen 0 und 40 Wochen mit einem Mittelwert von  $12,5 \pm 1,2$  Wochen, was den Stillzeiten bei der gesamten Population mit 0 bis 50 Wochen und einem Mittelwert von  $11,3 \pm 0,3$  Wochen sehr ähnlich ist. Die gesamte Stillzeit betrug bei Kindern mit HLA DRB1\*03/04-DQ8 im Mittelwert  $20,3 \pm 1,8$  Wochen (0-71 Wochen), in der gesamten Population  $18,1 \pm 0,4$  Wochen (0-116 Wochen).

Die Frequenzen für Insel-Autoantikörper differierten innerhalb der Kinder mit dem HLA-Genotyp DRB1\*03/04-DQ8 nicht signifikant, wenn die Kinder über unterschiedlich lange Zeiträume ausschließlich bzw. insgesamt gestillt wurden (Tab. 11).

Wurden die Kinder mit dem HLA-Genotyp DRB1\*03/04-DQ8 nie ausschließlich gestillt, ergab sich im Alter von fünf Jahren eine Frequenz von Insel-Autoantikörpern

von 22,6%. Bei alleiniger Ernährung mit Muttermilch über 0,1-3 Monate traten bei 5,0% Insel-Autoantikörper auf. Die Rate der Autoimmunität betrug 28,4%, wenn die ausschließliche Stilldauer zwischen 3,1 und 6 Monaten lag bzw. 50,0% bei einer ausschließlichen Stilldauer von mehr als sechs Monaten.

Das Risiko für Insel-Autoantikörper lag bei 24,4%, wenn die Kinder nie gestillt wurden, sondern von Geburt an mit industrieller Säuglingsmilchnahrung gefüttert wurden. Bei einer gesamten Stilldauer von 0,1-3 Monaten lag das Risiko für Insel-Autoantikörper bei 11,1%, bei Ernährung mit Muttermilch über insgesamt 3,1-6 Monate lag es bei 23,0% und bei einer gesamten Stilldauer von 6,1-12 Monaten bei 27,4%.

Tabelle 11: Life table-Risiko und Hazard ratio der Entwicklung von Insel-Autoantikörpern bei Kindern mit dem HLA DRB1\*03/04-DQ8-Genotyp in Abhängigkeit von der exklusiven und gesamten Stilldauer

		Insel-Ak positive Kinder (n)	Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)	Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)	<i>P</i> <sup>†</sup>
<b>exklusive Stilldauer</b>					
<b>HLA DRB1*03/04-DQ8-Genotyp</b>					<b>0,47</b>
nie ausschl. gestillt	(n = 29)	6	22,6 ± 8	0,7 (0,3-2,0)	0,5
0,1 - 3 Monate	(n = 20)	1	5,0 ± 5	0,2 (0,0-1,3)	0,1
3,1 - 6 Monate	(n = 36)	10	28,4 ± 8	1*	
> 6 Monate	(n = 6)	1	50,0 ± 35	0,6 (0,1-4,7)	0,6
unbekannt	(n = 14)	2	23,1 ± 15	0,5 (0,1-2,3)	0,4
<b>gesamte Stilldauer</b>					
<b>HLA DRB1*03/04-DQ8-Genotyp</b>					<b>0,75</b>
nie gestillt	(n = 17)	4	24,4 ± 11	1,2 (0,2-3,6)	0,8
0,1 - 3 Monate	(n = 21)	2	11,1 ± 8	0,4 (0,1-2,6)	0,4
3,1 - 6 Monate	(n = 15)	3	23,0 ± 12	1*	
6,1 - 12 Monate	(n = 35)	9	27,4 ± 8	1,4 (0,4-5,0)	0,6
> 12 Monate	(n = 2)	0	0	0	1,0
unbekannt	(n = 15)	2	20,4 ± 14	0,6 (0,1-4,0)	0,7

\* Referenz, die bei der Berechnung des Cox proportional Hazard Modells gebraucht wurde

*P*<sup>†</sup>: Werte wurden im Vergleich zur Referenz der Hazard ratio berechnet

### 3.3.2 Einfluss der Einführung von Beikost auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität

Verglichen mit der gesamten Kohorte zeigten sich weder im Zeitpunkt der Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln noch von Beikost im Allgemeinen (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung) bei der oben beschriebenen Risikopopulation mit dem HLA DRB1\*03/04-DQ8 Genotyp signifikante Unterschiede im Vergleich mit den Zeitpunkten der Einführung von Beikost bei der gesamten Kohorte (Tab. 12 und 13).

Tabelle 12: Vergleich des Zeitpunktes der Einführung von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung) bei HLA DRB1\*03/04-DQ8-Kindern mit der gesamten Population

	<b>HLA DRB1*03/04-DQ8</b>	<b>gesamte Population</b>
Beikost allgemein < 3 Monate	5,5%	5,2%
Beikost allgemein 3,1 - 6. Monat	45,1%	52,1%
Beikost allgemein 6,1 -12. Monat	48,4%	42,2%
Beikost allgemein > 12 Monate	1,1%	0,6%

Tabelle 13: Vergleich des Zeitpunktes der Einführung glutenhaltiger Nahrung bei HLA DRB1\*03/04-DQ8-Kindern mit der gesamten Population

	<b>HLA DRB1*03/04-DQ8</b>	<b>gesamte Population</b>
glutenhaltige Beikost < 3 Monate	4,5%	1,5%
glutenhaltige Beikost 3,1 - 6. Monat	33,0%	33,2%
glutenhaltige Beikost 6,1 - 12. Monat	58,0%	63,1%
glutenhaltige Beikost > 12. Monat	4,5%	2,2%

Die Analyse der Risiken für Insel-Autoantikörper bei diesen 105 Kindern ergab folgende Ergebnisse:

Ein signifikant erhöhtes Risiko ergab sich bei den Kindern, die Gluten bereits vor dem Alter von 3 Monaten bekamen (Tab. 14). Bemerkenswerter Weise hatten alle vier Kinder, die Gluten vor dem vollendeten 3. Lebensmonat bekamen und zugleich Insel-Autoantikörper entwickelten, den Genotyp DRB1\*03/04-DQ8. Das Risiko für Insel-Autoantikörper im Alter von fünf Jahren betrug somit bei Kindern mit HLA DRB1\*03/04-DQ8-Genotyp, die Gluten vor dem vollendeten 3. Monat erhalten hatten, 100% verglichen mit 16,7% bei Kindern dieser HLA-Risikogruppe, die Gluten erst nach dem 3. Monat erhalten hatten ( $p < 0,001$ , log rank test).

Das Risiko für Insel-Autoantikörper war bei Kindern mit HLA DRB1\*03/04-DQ8, die glutenhaltige Nahrung erstmals zwischen 3,1 und 6 Monaten bekamen, nicht signifikant höher (21,0%), als bei Kindern mit Gluteneinführung nach dem 6. Monat (18,5% bei Gabe zwischen dem 7. und 12. Monat; 0% bei Gabe nach dem 12. Monat).

Bei der Berechnung des Risikos für Insel-Autoimmunität abhängig vom Zeitpunkt der Einführung von Beikost ohne Differenzierung, ob es sich um glutenfreie oder glutenhaltige Nahrungsmittel handelte, fällt auf, dass bei einer Zufütterung von Beikost vor dem vollendeten 3. Lebensmonat das Risiko für Insel-Autoantikörper mit 80,0% sehr hoch ist. Dieses Ergebnis kommt dadurch zustande, dass vier der fünf Kinder, die im entsprechenden Zeitraum zugefüttert wurden, nicht nur glutenfreie sondern zugleich auch glutenhaltige Beikost erhalten hatten.

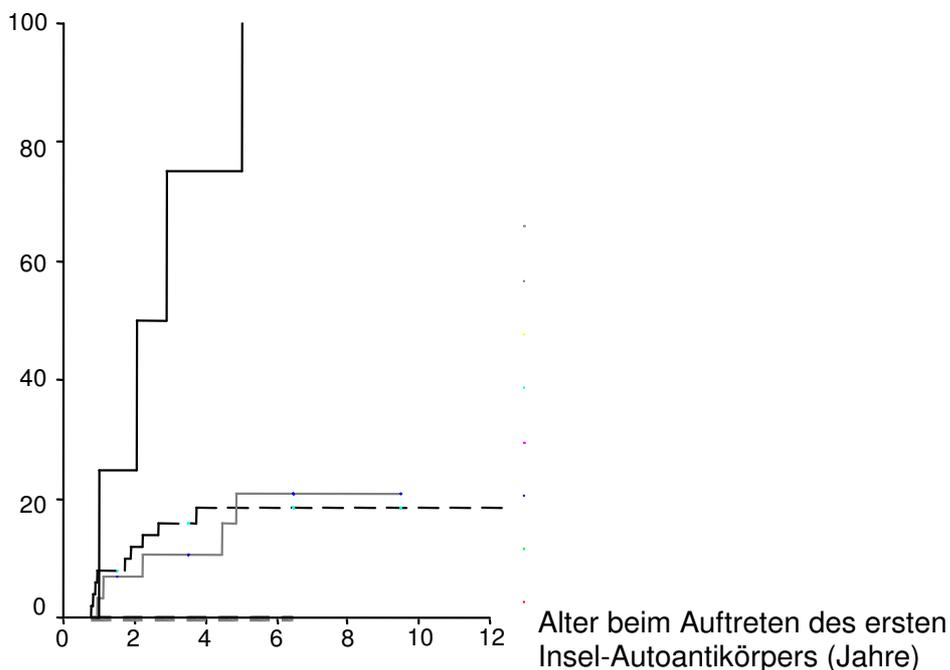
Tabelle 14: Kumulatives Risiko (Life table-Analyse) und Hazard ratio für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern bei Kindern mit dem HLA DRB1\*03/04-DQ8-Genotyp in Abhängigkeit von der Einführung von glutenhaltiger Nahrung und glutenfreier Beikost

		Insel-Ak positive Kinder (n)	Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)	Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)	<i>P</i> <sup>†</sup>
<b>Alter bei Einführung glutenhaltiger Beikost</b>					
<b>HLA DRB1*03/04-DQ8-Genotyp</b>					<b>0,009</b>
< 3. Monat	(n = 4)	4	100 ± 0 <sup>‡</sup>	7,6 (2,0-28,6)	0,003
3,1 - 6. Monat	(n = 29)	5	21,0 ± 9	1*	
6,1 -12. Monat	(n = 51)	9	18,5 ± 6	1,0 (0,3-3,1)	0,95
> 12. Monat	(n = 4)	0	0	0,0 (0-0)	0,99
unbekannt	(n = 17)	2	11,8 ± 8	0,7 (0,1-3,8)	0,72
<b>Alter bei Einführung von Beikost (glutenfrei und/oder glutenhaltig)</b>					
<b>HLA DRB1*03/04-DQ8-Genotyp</b>					<b>0,02</b>
< 3. Monat	(n = 5)	4	80,0 ± 18 <sup>‡</sup>	7,8 (2,1-29,2)	0,002
3,1 - 6. Monat	(n = 41)	5	14,9 ± 6	1*	
> 6. Monate	(n = 45)	9	20,9 ± 6	1,7 (0,6-5,1)	0,33
unbekannt	(n = 14)	2	14,3 ± 9	1,3 (0,3-7,0)	0,72

\* Referenz, die bei der Berechnung des Cox proportional Hazard Modells gebraucht wurde

*P*<sup>†</sup>: Werte wurden im Vergleich zur Referenz der Hazard ratio berechnet

### Frequenz Insel-Autoantikörper-positiver Kinder (%)



Gluten < 3. Monat	4	4	0	0	—
Gluten 3,1 - 6. Monat	29	27	16	0	—
Gluten 6,1 - 12. Monat	51	45	32	2	—
Gluten > 12. Monat	4	4	2	0	—

Abbildung 14: Insel-Autoantikörper-Entwicklung bei Kindern mit Genotyp HLA DRB1\*03/04-DQ8 in Abhängigkeit von verschiedenen Zeitpunkten der Einführung von glutenhaltiger Beikost

### 3.3.3 Einfluss der Ernährung in den ersten drei Lebensmonaten auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität

Im Folgenden wird das Risiko für Insel-Autoantikörper bei den 105 Kindern mit dem Genotyp HLA DRB1\*03/04-DQ8 entsprechend ihrer Ernährungsgewohnheiten in den ersten drei Lebensmonaten untersucht (Tab. 15).

Aus der Population wurden 42 Kinder (40,0%) mindestens drei Monate nur gestillt. Innerhalb dieser Gruppe entwickelten elf Kinder bis zum Alter von fünf Jahren Insel-Autoantikörper, was einer Frequenz von 28,0% entspricht. 37 Kinder (35,2%) wurden in den ersten drei Monaten mit industrieller Säuglingsmilchnahrung auf Kuhmilch-

basis zugefüttert. Bei der Berechnung wurden Kinder, die nie gestillt wurden und somit von Anfang an industrielle Säuglingsmilchnahrung erhalten hatten, und Kinder, die in den ersten drei Lebensmonaten sowohl industrielle Säuglingsmilchnahrung als auch und Muttermilch erhalten hatten, aufgrund der geringen Fallzahlen zusammengefasst. Drei Kinder dieser Gruppe (8,3%) entwickelten Zeichen einer Autoimmunität. Heraus ergibt sich ein 3,5fach, signifikant vermindertes Risiko, wenn die Kinder in den ersten drei Lebensmonaten mit industrieller Milchnahrung gefüttert wurden, ohne zugleich andere Beikost zu erhalten, im Vergleich zu Kindern, die in diesem Zeitraum nur gestillt wurden (8,3% versus 28%,  $p = 0,05$ ). Das Risiko für Insel-Autoimmunität lag bei frühzeitiger Glutengabe bei den Risikokindern signifikant am höchsten: Alle vier Kinder (100%), die vor dem vollendeten 3. Monat glutenhaltige Kost erhalten hatten, entwickelten Insel-Autoantikörper.

Tabelle 15: Life table-Risiko und Hazard ratio der Entwicklung von Insel-Autoantikörpern in der HLA-Gruppe DRB1\*03/04-DQ8 unter Berücksichtigung der Ernährungsgewohnheiten in den ersten drei Lebensmonaten

		Insel-Ak positive Kinder (n)	Frequenz von Insel-Ak mit 5 Jahren (% $\pm$ SE)	Hazard ratio (95% Konfi- denzintervall)	<i>P</i> <sup>†</sup>
<b>Ernährung in den ersten drei Lebensmonaten</b>					
<b>HLA DRB1*03/04-DQ8</b>					
ausschließlich gestillt	(n = 42)	11	28,0 $\pm$ 7	1*	<b>0,002</b>
industr. Sgl.milchnahrung	(n = 37)	3	8,3 $\pm$ 5	0,3 (0,1-1,0)	0,05
glutenfreie Beikost	(n = 1)	0	0	0	0,98
glutenhaltige Beikost	(n = 4)	4	100 $\pm$ 22	4,7 (1,5-15,0)	0,008
unbekannt	(n = 21)	2	14,5 $\pm$ 10	0,3 (0,1-1,5)	0,16

\* Referenz, die bei der Berechnung des Cox proportional Hazard Modells gebraucht wurde

*P*<sup>†</sup>: Werte wurden im Vergleich zur Referenz der Hazard ratio berechnet

### 3.4 Einfluss der Ernährungsgewohnheiten auf die Entwicklung von Autoantikörper gegen Gewebstransglutaminase C (tTGC-Ak)

Bei 1016 der 1610 Kinder wurden im Alter von zwei und fünf Jahren Antikörper gegen Gewebstransglutaminase C (tTGC-Ak) gemessen. Dabei zeigten 20 Nachkommen (1,2%) persistierende IgA-tTGC-Antikörper. Von diesen waren 16 (80% der 20 tTGC-Ak-positiven Kinder) ebenso für IgA-Endomysium-Antikörper positiv. Acht Nachkommen, dies entspricht 0,8% der auf tTGC-Ak untersuchten Kinder, hatten eine durch Biopsie bewiesene Zöliakie.

Das Alter bei erstmaligem Auftreten von Transglutaminase-Antikörper (tTGC-Ak) lag bei  $3,4 \pm 1,5$  Jahren. Das Alter bei Diagnose der Zöliakie-Erkrankung durch eine Dünndarmbiopsie lag bei den acht betroffenen Kindern durchschnittlich bei  $5,7 \pm 2,6$  Jahren.

Die durchschnittliche exklusive Stilldauer lag bei Kindern mit tTGC-Antikörpern im Mittelwert bei  $9,7 \pm 2,6$  Wochen; die gesamte Stilldauer umfasste durchschnittlich  $16,6 \pm 3,7$  Wochen.

7,7% der Kinder mit tTGC-Antikörpern erhielten bereits vor dem vollendeten 3. Monat Beikost. Bei 53,8% der Kinder mit tTGC-Antikörpern wurde Beikost erstmals zwischen dem vollendeten 3. und dem 6. Lebensmonat eingeführt. 38,5% wurden erstmals zwischen dem 6. und 12. Monat zugefüttert.

Von den 20 Kindern, die Antikörper gegen die Transglutaminase entwickelten, hatten 15 erstmalig zwischen dem 3,1. und dem 12. Monat ( $n = 6 \Rightarrow 40\%$  zwischen dem vollendeten 3. und dem 6. Lebensmonat,  $n = 9 \Rightarrow 60\%$  zwischen dem 7. und 12. Lebensmonat) Gluten erhalten; die Eltern von fünf Kindern konnten zum Zeitpunkt der ersten Glutengabe keine Angabe machen.

Tabelle 16 vergleicht das Risiko, tTGC-Antikörpern zu entwickeln, bei unterschiedlich langen Stilldauern sowie verschiedenen Zeitpunkten der Einführung glutenhaltiger Nahrung bzw. Beikost im Allgemeinen ohne Differenzierung in glutenfreie und glutenhaltige Nahrungsmittel. Das Risiko für tTGC-Antikörper war weder mit der Dauer des Stillens noch mit dem Alter bei Einführung von Beikost oder von glutenhaltigen Nahrungsmitteln signifikant assoziiert:

Kinder, die nie ausschließlich gestillt wurden, hatten mit 2,2% ein ähnliches Risiko für tTGC-Antikörper wie Kindern, die maximal drei Monate (1,7%) oder zwischen drei und sechs Monaten (2,1%) gestillt wurden. Keines der 50 Kinder, die länger als sechs Monate nur gestillt wurden, entwickelte tTGC-Antikörper.

Ein ähnliches, nicht signifikant unterschiedliches Profil zeigte sich bei der Betrachtung der gesamten Stilldauer. Die Frequenzen von tTGC-Antikörper lagen je nach Dauer der Ernährung mit Muttermilch zwischen 0% und 2,6%.

Weder durch unterschiedliche Zeitpunkte bei der Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln noch von Beikost im Allgemeinen kam es zu entscheidenden Änderungen in der Frequenz von Zöliakie-assoziierten Autoantikörpern. Bei einer Einführung von Gluten vor dem vollendeten dritten Lebensmonat bzw. nach dem vollendeten ersten Lebensjahr traten in der untersuchten Population keine messbar erhöhten tTGC-Antikörperwerte auf. Das Risiko für Transglutaminase-Antikörper lag bei erstmaliger Glutengabe zwischen dem vollendeten 3. und dem 6. Lebensmonat bei 2,6% und war damit von dem Risiko bei Einführung von Gluten zwischen dem 7. und dem 12. Lebensmonat (2,1%) nicht signifikant verschieden. Das Risiko für Transglutaminase-Antikörper lag je nach dem Zeitpunkt der ersten Gabe von Beikost (ohne Differenzierung zwischen glutenfreier und glutenhaltiger Nahrung) zwischen 1,7% und 3,4%.

Tabelle 16: Life table-Risiko und Hazard ratio der Entwicklung von tTGC-Antikörpern bei 1016 Kindern in Abhängigkeit von verschiedenen Ernährungsgewohnheiten

		<b>tTGC-Ak positive Kinder (n)</b>	<b>Frequenz von tTGC-Ak mit 5 Jahren (% ± SE)</b>	<b>Hazard ratio (95% Konfidenz- intervall)</b>	<b>P<sup>†</sup></b>
<b>exklusive Stilldauer</b>					<b>0,85</b>
nie aussch. gestillt	(n = 303)	7	2,2 ± 0,9	1,2 (0,4-3,5)	0,76
0,1 - 3 Monate	(n = 259)	4	1,7 ± 0,9	0,8 (0,2-2,9)	0,75
3,1 - 6 Monate	(n = 318)	6	2,2 ± 0,9	1*	
> 6 Monate	(n = 50)	0	0	0	0,98
unbekannt	(n = 86)	3	4,4 ± 2,6	1,9 (0,5-7,7)	0,35
<b>gesamte Stilldauer</b>					<b>0,84</b>
nie gestillt	(n = 209 )	4	1,6 ± 0,9	1,1 (0,3-5,1)	0,87
0,1 - 3 Monate	(n = 266)	6	2,6 ± 1,1	1,3 (0,3-5,4)	0,66
3,1 - 6 Monate	(n = 174)	3	1,9 ± 1,1	1*	
6,1 - 12 Monate	(n = 277)	4	1,6 ± 0,8	0,9 (0,2-4,0)	0,88
> 12 Monate	(n = 11)	0	0	0	0,98
unbekannt	(n = 79)	3	4,6 ± 2,7	2,5 (0,5-12,2)	0,27
<b>Einführung von Beikost (glutenfreie und/oder glutenhaltige Nahrung)</b>					<b>0,43</b>
< 3 Monate	(n = 49)	1	2,0 ± 2,0	0,9 (0,1-7,0)	0,89
3,1 - 6. Monat	(n = 408)	7	1,9 ± 0,7	1*	
6,1 - 12. Monat	(n = 345)	5	1,7 ± 0,8	0,7 (0,1-6,1)	0,76
unbekannt	(n = 214)	7	3,4 ± 1,4	1,7 (0,2-14,1)	0,61
<b>Einführung von glutenhaltiger Beikost</b>					<b>0,99</b>
< 3. Monat	(n = 11)	0	0	0	0,99
3,1 - 6. Monat	(n = 253)	6	2,6 ± 1,1	1*	
6,1 - 12. Monat	(n = 484)	9	2,1 ± 0,7	0,8 (0,3-2,2)	0,64
> 12. Monat	(n = 14)	0	0	0	0,99
unbekannt	(n = 254)	5	1,8 ± 0,9	0,8 (0,3-2,8)	0,79

\* Referenz, die bei der Berechnung des Cox proportional Hazard Modells gebraucht wurde

P<sup>†</sup>: Werte wurden im Vergleich zur Referenz der Hazard ratio berechnet

## **4. Diskussion**

### **4.1 Grundlagen**

#### **4.1.1 Typ 1 Diabetes**

Typ 1 Diabetes ist eine chronische Erkrankung mit unbekannter Ätiologie an der ca. 0,3% der deutschen Bevölkerung leiden (Ziegler, 1999b). Diese Autoimmunerkrankung ist durch die selektive Zerstörung der Insulin-produzierenden  $\beta$ -Zellen des Pankreas gekennzeichnet, aus der das Symptom der Hyperglykämie und die dadurch entstehenden Spätfolgen resultieren (Atkinson, 2001; Eisenbarth, 1986). Moderne Insulintherapien machen es den an Diabetes erkrankten Patienten heutzutage möglich, bei flexibler Mahlzeitengestaltung Blutzuckerspiegel zu erreichen, die nur gering vom Normbereich abweichen und relativ stabil sind (Badenhoop, 1994).

Die Erkrankung bringt sowohl eine erhöhte Mortalität als auch eine erhöhte Morbidität durch eine Reihe von Endorgan-Komplikationen mit sich. Unbehandelt oder bei schweren Diätfehlern kann die Stoffwechsellage zu einem akut lebensbedrohlichen Zustand führen, der durch massive Hyperglykämie, Elektrolytstörungen, ausgeprägte Ketoazidose und schließlich Bewusstseinsverlust gekennzeichnet ist (Coma diabeticum).

Zusätzlich zu diesen Akutkomplikationen kommt es bei Personen mit Typ 1 Diabetes durch die Störung des Glucosemetabolismus häufig zu Spätkomplikationen. Die Lebensqualität und Lebenserwartung der Patienten wird in erster Linie durch die Entwicklung und den Verlauf chronischer Komplikationen bestimmt: Die durch den absoluten Insulinmangel hervorgerufenen lang dauernden Hyperglykämien, die in schweren Fällen auch mit Azidose und Ketose (Ketoazidose) verbunden sind, können zu gravierenden Folgeerkrankungen führen. Personen mit Typ 1 Diabetes sind bei ungenügender Blutzuckereinstellung und durch ihr zusätzliches Risikopotential sowohl mikro- und makroangiopathisch als auch neuropathisch gefährdet: Es kann zu Defekten an den mittleren und kleineren Gefäße vor allem der Retina (Retinopathie) und an den Glomeruli der Niere (Nephropathie) kommen. Verschiedene neurologische Erkrankungen, besonders im peripheren Nervensystem (Neuropathie) und Arteriosklerose sind mögliche typische Begleiterkrankungen des Diabetes mellitus. Die

Entwicklung und der Schweregrad dieser Läsionen hängen hauptsächlich vom Ausmaß und der Dauer der Hyperglykämie ab.

Auf Grund der hohen Funktionsreserve intakter  $\beta$ -Zellen kommt es erst dann zu einem klinisch bedeutsamen Insulinmangel, wenn ca. 90% der  $\beta$ -Zellen zerstört sind. Die Glukosehomöostase kann dann nicht mehr aufrechterhalten werden und eine sofortige Insulintherapie ist unumgänglich. Die Diagnose „Typ 1 Diabetes“ ist somit der Endpunkt einer organspezifischen Zerstörung. Sie wird meist vor dem 15. Lebensjahr gestellt.

Der Großteil der Erkenntnis über die Pathogenese des Autoimmundiabetes stützt sich auf Ergebnisse, die im Tiermodell der Non-Obese-Diabetic- (NOD-)Maus und zwar direkt in den Langerhansschen Inseln des Pankreas erhoben wurden (Thomas, 2000). Die NOD-Maus entwickelt spontan eine Autoimmunität. Während alle Tiere synchron im Alter von drei bis vier Wochen erste Zeichen einer Inselentzündung aufweisen, entwickelt sich ein manifester Diabetes nur bei einem Teil der Tiere, und dies in ganz unterschiedlichem Alter (Bingley, 1994; Dotta, 1989). Die eigentliche Destruktion der  $\beta$ -Zellen scheint das Ergebnis zellulärer Ereignisse zu sein, bei denen T-Zellen die entscheidende Rolle spielen. Um die Langerhansschen Inseln finden sich Infiltrate, die größtenteils aus zytotoxischen T-Lymphozyten bestehen, die offenbar die Insulin-bildenden  $\beta$ -Zellen angreifen und zerstören.

Zwei verschiedene Phasen der Insulitis werden bei dem Tiermodell vermutet: eine benigne Insulitis, bei der Th2-Zellen und ihr Sekretionsprodukt Interleukin-4 überwiegen und die  $\beta$ -Zellen intakt bleiben, und die destruktive Insulitis, bei der Th1-Zellen dominieren und spezifische und unspezifische inflammatorische Komponenten des Immunsystems aktiviert werden (Kolb, 1997; Katz 1995). Vor allem ein gestörtes Gleichgewicht zwischen Th1- und Th2-Zellen mit dominieren der Th1-Antwort wird mit der Entwicklung der Anti- $\beta$ -Zell-Autoimmunität in Verbindung gebracht (Schuppan, 2000; Eisenbarth, 1996; Haskins, 1996; Wicker, 1986).

Die Krankheit entwickelt sich auf dem Boden einer genetischen Prädisposition im Zusammenwirken mit noch weitgehend ungeklärten Umweltfaktoren. Den größten Beitrag zum genetischen Krankheitsrisiko liefert die HLA-D-Region, weitere wichtige Geneorte liegen auf anderen Chromosomen, sind aber zum größten Teil noch nicht identifiziert (Kolb, 2000). Kinder, bei denen Mutter oder Vater an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, haben ein Risiko von ca. 6% bis zum 20. Lebensjahr selbst diese Krank-

heit zu entwickeln. In der Normalbevölkerung liegt die Prävalenz hingegen nur bei 0,3%. Damit haben Kinder diabetischer Eltern ein 10-20fach erhöhtes Risiko für eine Diabetesmanifestation gegenüber Kindern aus nicht-diabetischen Familien.

Da jedoch eine genetische Veranlagung nicht in jedem Fall zur Entwicklung von Typ 1 Diabetes führt (bei eineiigen Zwillingen entwickelt sich nur in 30-40% der Fälle bei beiden Zwillingen ein Typ 1 Diabetes), wird vermutet, dass das Krankheitsgeschehen durch Umwelteinflüsse zusätzlich getriggert wird. Vermutlich existieren sowohl krankheitsfördernde wie auch protektive Umweltfaktoren. Studien an menschlichen Populationen haben ebenso wie Tiermodelle gezeigt, dass Umweltfaktoren das Risiko einer Typ 1 Diabetesentwicklung beeinflussen. Neben Studien an Zwillingen und Migranten sprechen auch zeitliche und geographische Unterschiede in der Inzidenz des Typ 1 Diabetes für eine entscheidende Rolle von Umweltfaktoren in der Entwicklung des Diabetes (Akerblom, 1998). Die ausgeprägten geographischen Unterschiede in der Inzidenz können teilweise durch die unterschiedliche geographische Verteilung von genetischen Risikomarkern begründet werden. Parallel hierzu wurde auch der Einfluss von Umweltfaktoren, wie beispielsweise ein unterschiedlicher Konsum von Kuhmilchprodukten oder Unterschiede in den Stillgewohnheiten für die Inzidenzschwankungen verantwortlich gemacht (Muntoni, 1997; Scott, 1990).

Umweltfaktoren könnten sowohl der Auslöser des Autoimmunprozesses sein, als auch diesen weiter vorantreiben. Dies impliziert, dass eine Modifikation der Umweltfaktoren eine Möglichkeit darstellt, die Insel-Autoimmunität und damit die Diabetesmanifestation zu vermindern oder sogar gänzlich zu verhindern (Atkinson, 2001; Knip, 1999).

Die Autoimmunität kann bereits in den ersten Lebensjahren auftreten, so dass die Vermutung nahe liegt, dass die Umweltfaktoren das Fortschreiten der Erkrankung früh im Leben beeinflussen (Ziegler, 1999a). Die Durchführung einer Primärprävention macht somit eine frühe Intervention nötig.

Die am frühesten im Leben einwirkenden Umweltfaktoren, die die Typ 1 Diabetesentwicklung beeinflussen könnten, sind Nahrungsantigene. In diesem Zusammenhang werden beim Menschen oft die in Kuhmilch und Getreide enthaltenen Proteine als immunogene Komponente diskutiert (Norris, 2002; Kimpimaki, 2001a). In Tiermodellen sind Versuche unternommen worden, um mittels speziellen Diäten die Diabetesinzidenz herab zu setzen (Reddy, 2001; Funda, 1999; Hoorfar, 1993; Coleman, 1990).

### 4.1.2 Zöliakie

Bei der Zöliakie handelt es sich ebenfalls um eine Autoimmunerkrankung. Sie ist durch eine abnorme Zottenabflachung (Atrophie) und Zottendestruktion gekennzeichnet und geht mit einer konsekutiven globalen Malabsorption einher.

Nach einem meist uncharakteristischen Beschwerdebeginn mit Appetitlosigkeit, Erbrechen und Irritabilität tritt die floride Zöliakie bei den meisten Kindern im Alter von 9 bis 18 Monaten in Erscheinung. Die massigen, nicht obligat dünnen Stühle sind übelriechend und fettig glänzend (Steatorrhoe). Ein aufgetriebenes Abdomen wird besonders in aufrechter Körperhaltung beobachtet und ist Ausdruck geblähter Darmschlingen und einer schlaffen Bauchdecke. Gewichtsstillstand bzw. Gewichtsverlust mindern das Unterhautfettgewebe und Muskulatur. Dies ist am Gesäß (Tabaksbeutelgesäß), an den Oberschenkelinnenseiten und im Schulterbereich am deutlichsten sichtbar. Im Kindesalter kann es durch die aus der Zöliakie resultierende gestörte Darmfunktion zu Mangelernährung und dadurch zu Wachstums- und Entwicklungsstörungen und Vitaminmangelsymptomen kommen (Harms, 1998).

Unter einer streng glutenfreien Ernährung gewinnt die entzündete und abgeflachte Dünndarmschleimhaut ihre normale Gestalt und Funktion zurück. Neuere Daten zeigen, dass sich das Überleben unter gut kontrollierter Therapie bei hoher Compliance von 90% nicht wesentlich von dem der Normalpopulation unterscheidet (Schmöle-  
rich, 1999).

Personen mit nicht behandelter Zöliakie bekommen häufiger neurologische Erkrankungen. Ursache dafür ist vermutlich ein Vitaminmangel (Vitamin B12, E, D, Folsäure und Pyridoxin). Durch die Zottenatrophie und Kryptenhyperplasie der Dünndarmschleimhaut kommt es zu einer mangelhaften Resorption essentieller Nahrungsbestandteile (Cooke, 1984). Weitere Sekundärkomplikationen einer nicht behandelten Zöliakie sind Eisenmangel-Anämie, Osteoporose, Wachstumsstörungen sowie ein erhöhtes Malignomrisiko.

Die Erkrankung ist mit 1:250 bis 1:3000 in Europa relativ häufig. In verschiedenen Populationen ist die Prävalenz sehr unterschiedlich hoch. In Japan und Schwarzafrika kommt die Erkrankung nicht vor. Sie tritt bei Frauen etwas öfter auf als bei Männern (1,5:1).

Die Disposition in der Bevölkerung ist an genetische Faktoren geknüpft. So sind erstgradige Verwandte bis zu 10% betroffen. Es findet sich eine familiäre Disposition, die nicht den Mendel-Gesetzen folgt, so dass es sich um eine multigene oder multifaktorielle Pathogenese handelt.

Ursache der Erkrankung ist eine abnorme Reaktion der Schleimhaut auf die alkohol-lösliche Fraktion des in vielen Getreidesorten enthaltenen Glutens (Gliadin). Weizenmehl enthält beispielsweise einen Proteingehalt von 7-15%, der zu 90% aus Gluten besteht. Die Glutenfraktion des Weizenmehls ist wasserunlöslich, lässt sich jedoch in Äthylalkohol in zwei Fraktionen auftrennen: das lösliche Gliadin und das unlösliche Glutenin.

Lebensmittel sind glutenhaltig, wenn sie Weizen, Dinkel, Grünkern, Roggen, Gerste, Hafer oder Wildreis enthalten. Dabei spielen die Zustandsformen (Mehl, Gries, Graupen, Keime, Kleie, Schrot, Flocken) keine Rolle. Somit befindet sich in Brot, Backwaren, Nudeln, Getreidekaffee, Bier und auch viele Fertiggerichte Gluten. Je nach Hersteller kann Gluten beispielsweise auch in Gemüse- und Obstzubereitungen, Milchprodukten mit Fruchtzubereitung, Käsezubereitung, Trockenfrüchten, Fischerzeugnissen, Gewürzmischungen, Senf, Ketchup, Würzöle, Essig, Bindemittel, Pommes frites, Kartoffelbrei, Chips, Light-Produkte, Süßwaren, aromatisiertem Tee, Fruchtsaftgetränken, Likören und Whiskey enthalten sein.

Als glutenfrei sind Fleisch, Fisch, Eier, naturbelassene Milchprodukte, Naturkäsesorten, Butter, Margarine, Öle, Kartoffeln, Hülsenfrüchte (auch Soja), frisches Gemüse und Obst, Zucker, Honig, Konfitüren, Kräuter, Salz, Mais, Reis, Hirse, Buchweizen, Nüsse, Sesam, Sonnenblumen- und Kürbiskerne, Mohn, Leinsamen, reiner Kakao, Mineralwasser, reine Fruchtsäfte, Kaffee, nicht aromatisierter Tee, Wein, Sekt und Weinbrand anzusehen.

Gluten war bisher nicht deklarationspflichtig, d.h. es musste auf der Zutatenliste der Verpackung von Lebensmitteln nicht angegeben werden. Somit war für den Verbraucher oft schwierig festzustellen, welche Produkte glutenhaltig sind. Ab November 2005 müssen glutenhaltige Getreide und daraus hergestellte Erzeugnisse nach einer neuen EU-Richtlinie gekennzeichnet werden (Hoffmann, 2004). Diese Richtlinie gilt jedoch nur für fertig verpackte Lebensmittel.

Obwohl sich das klinische Spektrum der Zöliakie in den letzten Jahrzehnten nicht verändert hat, ist eine erhöhte Prävalenz zu verzeichnen. Dies kann durch eine verbesserte Antikörperdiagnostik erklärt werden, mit deren Hilfe sog. latente bzw. silente

Formen der Erkrankung mit einer makroskopisch normalen Mukosa, auffälligen Antikörpern und histologisch und immunologisch auffälliger Schleimhaut nachgewiesen werden können, wie sie gehäuft bei Patienten mit Diabetes vorkommen. Auch atypische Formen der Zöliakie, zu denen u. a. neurologische Symptome wie z.B. periphere Neuropathien, Myopathien und zerebrale Ataxie zählen, wurden beschrieben (Burk, 2001; Polizzi, 2000; Usai, 1997; Hadjivassiliou, 1996).

#### 4.1.3 Diabetes- und Zöliakie-assoziierte Autoantikörper

Sowohl beim Typ 1 Diabetes als auch bei der Zöliakie spielen die von B-Zellen produzierten Autoantikörper eine wichtige Rolle in der Früherkennung und bei der Differentialdiagnose der Erkrankung.

Die autoimmune Destruktion der  $\beta$ -Zellen kann viele Jahre vor der Diabetesmanifestation beginnen und symptomlos verlaufen. Sie ist bis zu zwölf Jahre vor dem Ausbruch der Erkrankung durch immunologische Phänomene, insbesondere dem Auftreten von Insel-Autoantikörper im Serum nachweisbar (Ziegler, 1999a). Diese Insel-Autoantikörper sind sehr spezifisch für den Diabetes und können im Venen- oder Kapillarblut mit sensitiven und international standardisierten Testmethoden gemessen werden. Derzeit gibt es vier Insel-Autoantikörper, die für die Diagnostik und Prädiktion des Typ 1 Diabetes etabliert sind: zytoplasmatische Inselzell-Antikörper (ICA), Insulin-Autoantikörper (IAA), Glutamatdecarboxylase-Antikörper (GADA) und Antikörper gegen die Tyrosinphosphatase IA-2 (IA-2A). In der BABYDIAB-Studie haben sich für die Diagnostik der Autoimmunerkrankung IAA, GADA und IA-2A etabliert. Bei den Autoantigenen GAD und IA-2 handelt es sich um Enzyme, die u. a. in den Inselzellen des Pankreas vorkommen. ICA sind Antikörper, die sich gegen Bestandteile der Inselzellen, unter anderem auch gegen GAD und IA-2 richten. Gegen Inselautoantigen gerichtete T-Zellen sind hingegen im peripheren Blut von Patienten mit Typ 1 Diabetes mit den derzeit verfügbaren Nachweismethoden kaum oder nur mit größter Schwierigkeit zu detektieren (Atkinson, 2000).

Insel-Autoantikörper treten bei Personen, die später im Leben an Typ 1 Diabetes erkranken, häufig bereits in den ersten beiden Lebensjahren auf. Im Tiermodell der NOD-Maus konnte nachgewiesen werden, dass eine frühe humorale Immunantwort

gegen Insulin für einen Typ 1 Diabetes determiniert (Yu, 2000). Meistens sind bei Kindern Antikörper, die sich gegen das körpereigene Insulin richten (IAA), die ersten detektierbaren Autoantikörper und gehen der Entwicklung weiterer Antikörper voraus. Nur in wenigen Fällen sind GADA alleine als erste Antikörper im Kindesalter messbar (Ziegler, 1999a; Roll, 1996). Diese Beobachtung spricht dafür, dass Insulin ein wichtiges, wenn nicht sogar das primäre Antigen in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes ist. Meist folgt eine Ausweitung der Antikörper (spreading). Am häufigsten erscheinen die Insel-Autoantikörper in der folgenden Reihenfolge: zuerst Antikörper gegen Insulin, dann gegen GAD und zuletzt gegen IA-2 (Naserke, 1998).

Da nur Personen mit mehr als einem Insel-Autoantikörper später Typ 1 Diabetes entwickeln, scheint diese Ausweitung für das Fortschreiten der Insulinitis zum manifesten Diabetes nötig zu sein (Ziegler, 1999a).

Im Rahmen der prospektiven BABYDIAB-Studie, die am Institut für Diabetesforschung in München durchgeführt wird, konnte die Bedeutung der Anzahl und des Alters bei Auftreten der Insel-Autoantikörper für die Entwicklung des Typ 1 Diabetes dargestellt werden: Kinder, die bereits ab dem Alter von 9 Monaten mehr als einen persistierenden Insel-Autoantikörper aufweisen, haben ein kumulatives Risiko von 100%, bis zum 5. Lebensjahr an Typ 1 Diabetes zu erkranken. Auch Kinder, die ab dem Alter von zwei Jahren persistierende Insel-Autoantikörper aufweisen, haben ein hohes Erkrankungsrisiko für Typ 1 Diabetes. In Life-table-Analysen ergab sich, dass 27% dieser Kinder bis zum 5. Lebensjahr Typ 1 Diabetes entwickeln (Naserke, 2001). Im Gegensatz dazu liegt das Diabetesrisiko bei nahe 0 Prozent, wenn im Alter von zwei Jahren alle drei Insel-Autoantikörper negativ sind (Ziegler, 1999a). Für die Praxis bedeutet dies, dass ein Screening von Insel-Autoantikörpern im Alter von zwei Jahren eine hohe Voraussagekraft für die Entwicklung eines Diabetes im frühen Kindesalter hat.

Zwei unterschiedliche Verlaufsformen des Typ 1 Diabetes können unterschieden werden: ein „fulminanter Typ“, bei dem explosionsartig eine massive Entzündungsreaktion und Autoantikörper-Bildung innerhalb von Monaten nachweisbar ist. Dieser Typ führt meist in sehr kurzer Zeit und vor dem dritten Lebensjahr zur klinischen Diabetesmanifestation. Die andere Verlaufsform ist schleichend, milder, chronischer mit aufflammenden und abklingenden Entzündungszeichen und Insel-Autoantikörpertitern. Eine Ursache für die verschiedenen Verlaufsformen ist derzeit nicht bekannt (Yu, 1996).

Auch Zöliakie kann im Rahmen von Auto-Antikörper-Testungen diagnostiziert bzw. ausgeschlossen werden. Derzeit sind drei verschiedene Zöliakie-assoziierte Antikörper bekannt: Antikörper der Klassen IgA und IgG gegen das in Getreide enthaltene Gliadin (Anti-Gliadin-Antikörper, AGA), Antikörper der Klasse IgA gegen das Endomysium (EMA), ein feines Bindegewebe der glatten Muskulatur, und Antikörper gegen das Enzym Gewebe-Transglutaminase C (tTGC-Ak) der Klassen IgA und IgG. IgA Endomysium-Antikörper wurden lange Zeit als serologische Marker für die Zöliakie-Diagnostik verwendet. Sie sind den Anti-Gliadin-Antikörpern in ihrer Spezifität überlegen. 1997 identifizierte Dieterich die Gewebe-Transglutaminase als zentrales, evtl. sogar einziges Zöliakie-assoziiertes Autoantigen des Endomysiums (Dieterich, 1997). In mehreren Studien zeigte sich, dass die tTGC-Antikörper in ihrer Sensitivität und Spezifität den Endomysium-Antikörpern überlegen sind. Dabei werden Antikörper der Klasse IgG in der Zöliakie-Diagnostik generell als weniger spezifisch eingestuft als Antikörper der Klasse IgA (Dieterich, 1997). Dabei sollte jedoch nicht grundsätzlich bei tTGCA-IgA negativen Risiko-Personen auf die Messung der IgG-spezifischen Antikörper verzichtet werden, da die Erkrankung Zöliakie gehäuft mit einem angeborenen IgA-Mangel assoziiert ist (Collin, 1992).

Die Untersuchung von Diabetes- und Zöliakie-assoziierten Autoantikörper macht eine Früherkennung der beiden Krankheiten möglich.

Durch die Antikörper-Diagnostik ist die Abgrenzung des Typ 1 Diabetes vom Typ 2 Diabetes, der keine Autoimmunerkrankung ist und bei dem somit auch keine Autoantikörper auftreten, möglich. Sinnvoll erscheint bei positiven Diabetes-assoziierten Autoantikörpern die Durchführung von entsprechenden Funktionstests, z. B. eines oralen Glukosetoleranztestes, wodurch krankhafte Veränderungen in der Glucosehomöostase bereits im Frühstadium erkannt werden können. Durch eine sich anschließende adäquate Behandlung kann dann eine Stoffwechsellentgleisung verhindert werden.

Derzeit werden Antikörpertestungen vor allem im Zusammenhang mit Studien durchgeführt, die sich mit der Pathogenese und der Prävention des Typ 1 Diabetes befassen.

Bei der Zöliakie ist ein Antikörper-Screening, beispielsweise auf Transglutaminase-Antikörper, besonders von Risiko-Populationen von Bedeutung. Zur Zöliakie-Risikogruppe gehören auch Personen mit Typ1 Diabetes, bei denen die silente und damit häufig unentdeckte Form der Zöliakie vermehrt auftritt. In einer Studie von Not

und Mitarbeitern im Jahre 2001 wurde für Patienten mit Typ 1 Diabetes die Zöliakie-Prävalenz mit 5,7% ermittelt. Sie lag somit im Vergleich zur Zöliakie-Prävalenz bei erstgradigen Verwandten mit 1,9% bzw. 0,25% in der Kontrollgruppe signifikant höher (Not, 2001).

Das gehäufte gemeinsame Auftreten der silenten, symptomarmen Form der Zöliakie und von Typ 1 Diabetes hat zur Empfehlung eines Screenings von Zöliakie-assoziierten Antikörpern bei Patienten mit Typ 1 Diabetes geführt hat. Auch bei erstgradigen Verwandten von Typ 1 Diabetikern lässt sich von einer Risikopopulation für Zöliakie sprechen, da bereits durch Studien bewiesen wurde, dass diese Population ein erhöhtes Risiko hat, selbst an Typ 1 Diabetes zu erkranken (Ziegler, 1999a; Atkinson, 1994). Ferner konnte bei Kleinkindern von Vätern und Müttern mit Typ 1 Diabetes eine erhöhte Prävalenz von Zöliakie-assoziierten Antikörpern nachgewiesen werden (Hummel, 2000b).

Bei positiven Zöliakie-assoziierten Antikörperwerten kann sich eine Dünndarm-Biopsie zur histologischen Darstellung der Zottenatrophie und Verifizierung der Diagnose Zöliakie an die Immundiagnostik anschließen. Durch eine rechtzeitige Behandlung der Zöliakie mit glutenfreier Nahrung kann man den oben genannten Spätfolgen vorbeugen.

Eine frühzeitige Diagnose und Behandlung der Zöliakie mit glutenfreier Ernährung scheint auch den Krankheitsverlauf anderer Autoimmunerkrankungen positiv zu beeinflussen. Dies wurde in einer Untersuchung dadurch gezeigt, dass die Prävalenz anderer Autoimmunerkrankungen vor allem bei Personen mit klinisch silenter Zöliakie, die über lange Zeit nicht diagnostiziert wird, erhöht ist (Ventura, 2000).

#### 4.1.4 Bedeutung des HLA-Typs und Umweltfaktoren für die Entstehung von Typ 1 Diabetes und Zöliakie

Trotz unseres heute besseren Verständnisses der Immunpathogenese des Typ 1 Diabetes und der Entdeckung neuer mit B-Zellen assoziierten Antigene während der letzten 15 Jahre konnte der initiale Mechanismus, welcher den Autoimmunprozess in Gang setzt, bislang noch nicht identifiziert werden.

Genetische Faktoren prädisponieren mit Sicherheit zur Manifestation von Typ 1 Diabetes. Dennoch werden die meisten neu aufgetretenen Erkrankungen bei Kindern diagnostiziert, die nicht erstgradige Verwandte mit Typ 1 Diabetes in ihrer Familie haben (Tuomilehto, 1992; Dahlquist, 1989). Man sollte davon ausgehen, dass Umweltfaktoren in Verbindung mit einer genetischen Grundlage zur Manifestation des führen.

##### 4.1.4.1 Bedeutung des HLA-Typs für die Entstehung des Typ 1 Diabetes und der Zöliakie

Die Bereitschaft, einen Typ 1 Diabetes zu entwickeln, ist erblich. Erstgradige Verwandte von Personen mit Typ 1 Diabetes haben ein Risiko von etwa 5% ebenfalls zu erkranken (Atkinson, 1994); bei Kindern diabetischer Mütter liegt das Risiko für Autoimmunität in der BABYDIAB-Studie bei 4,6%, bei Kindern diabetischer Väter bei 6,4%. Dies entspricht einem etwa 10fach höherem Risiko als bei nicht-verwandten Personen der Allgemeinbevölkerung (ca. 0,3-0,5%).

Die genetische Prädisposition für einen Typ 1 Diabetes ist polygen. Derzeit sind 18 verschiedene Gen-Loci bekannt, die mit Typ 1 Diabetes assoziiert sind (Davies, 1994). Hierbei gilt das auf Chromosom 6p gelegene, den HLA-Komplex codierende Gen IDDM1 mit 50% Determination als Wichtigstes. Zwei weitere prädisponierende Genorte sind der IDDM2-Locus (Insulin-Polymorphismus) und der IDDM 3-Locus auf Chromosom 15q26.

Durch eine HLA-DR/DQ-Typisierung ist es möglich, sowohl Risikoallele (DR3/4 DQB1\*57non-Asp oder DR4/4 DQB1\*57non-Asp) als auch protektive Allele (DQB1\*0602) hinsichtlich des Typ 1 Diabetes zu identifizieren. Kinder mit dem HLA-

Genotyp DR3/4 DQB1\*57non-Asp oder DR4/4 DQB1\*57non-Asp haben bereits innerhalb der ersten beiden Lebensjahre ein siebenfach erhöhtes Risiko, Diabetes-assoziierte Autoantikörper zu entwickeln (Schenker, 1999). Bei Personen mit Typ 1 Diabetes fand man eine erhöhte Frequenz von DR3 und/oder DR4 (69%) gegenüber Kontrollpersonen (26%), wobei das Risiko für Träger beider Allele, d.h. DR3/DR4-heterozygote Personen besonders hoch war (Schenker, 1999; Rewers, 1996; Todd, 1987; Tiwari, 1985).

Erstgradige Verwandte von Personen mit Typ 1 Diabetes mit Risikogenotypen haben ein Risiko von 20-40%, innerhalb der ersten drei Lebensjahre Insel-Autoantikörper als Zeichen einer beginnenden Inselzellzerstörung zu entwickeln (Schenker, 1999; Rewers 1996). Im Vergleich dazu entwickeln nur 2,7% der Kinder ohne diese Genotypen Insel-Autoantikörper (Ziegler, 1999a).

Die HLA-Typisierung ist jedoch nur zur Auswahl von Risikogruppen aus der Allgemeinbevölkerung geeignet, da eine Prädiktion über die Entwicklung des Typ 1 Diabetes erst durch die zusätzliche Bestimmung der Insel-Autoantikörper gemacht werden kann.

Die Wahrscheinlichkeit für erstgradige Verwandte von Personen mit Zöliakie ebenfalls diese Krankheit zu erlangen liegt zwischen 8 und 18% und erreicht bei eineiigen Zwillingen 70% (Schuppan, 2000). Auch bei der Zöliakie gibt es gewisse Risikoallele, die für Zöliakie empfänglich machen: das HLA-DQ2- bzw. DQ8-Allel. Mehr als 95% der Patienten sind heterozygot DR\*3 (DQ2) bzw. DQ\*05 und DR\*07 (DQ2) (Sollid, 1993).

Der HLA-Genkomplex kontrolliert Entzündungs- und Abwehrreaktionen des Organismus und scheint in besonderer Weise an den Entzündungsreaktionen der Dünndarmschleimhaut gegen das Gliadin beteiligt zu sein.

Neuere Studien zeigen, dass die Zöliakie wie auch der Typ 1 Diabetes mit Genen auf Chromosom 15q26 und möglicherweise auf 11q assoziiert sind (Greco, 1998; Houlston, 1997).

Bei HLA-DR3 DQ2 sowie beim IDDM3 Gen auf Chromosom 15q26 handelt es sich somit um gemeinsame Genorte, die mit beiden Erkrankungen, Typ 1 Diabetes und Zöliakie, assoziiert sind.

#### 4.1.4.2 Bedeutung der Umweltfaktoren für die Entstehung des Typ 1 Diabetes und der Zöliakie

Ergebnisse der deutschen BABYDIAB-Studie sprechen dafür, dass der Krankheitsprozess beim Menschen bereits in den ersten beiden Lebensjahren beginnt (Roll, 1996). Daraus ergibt sich, dass Umweltfaktoren schon früh im Leben wirksam werden müssen, wenn sie Auslöser der Insulitis und nicht nur Modulatoren des Entzündungsverlaufs sein sollen. Auch bei der NOD- (Non-obese-diabetic-) Maus und der BB- (Biobreeding-) Ratte beginnt die Insulitis spontan kurz nach der Geburt. Durch geeignete Umweltbedingungen in der ersten Lebensphase lässt sich bei den Tiermodellen eine vollständige Diabetesprävention erreichen.

Geht man davon aus, dass Umweltfaktoren den Beginn der zu Typ 1 Diabetes führenden Inselzell-Zerstörung triggern, so ist die molekulare Mimikry eine beliebte Erklärungshypothese (Baum, 1996). Hierbei könnte das entscheidende Ereignis entweder eine Infektion mit Viren oder Mikroorganismen oder eine frühe Exposition gegenüber Nahrungsproteinen (Beispiel Zöliakie) sein. Beide führen durch die Ähnlichkeit von Proteinbestandteilen des Viruspartikels bzw. Nahrungsmittels mit Teilen der  $\beta$ -Zelle zur Kreuzreaktivität mit körpereigenem Gewebe und somit zur organspezifischen Autoimmunität (Ziegler, 2000).

Eine Reihe von Umweltfaktoren wird als möglicher Auslöser bzw. Modulator des Autoimmunprozesses diskutiert; darunter fallen neben bestimmten Impfungen (Masern, Mumps, Röteln, BCG) auch Ernährungsgewohnheiten im Säuglingsalter. Es wurde beispielsweise berichtet, dass die frühe Einführung von Kuhmilch in die Ernährung oder zeitlich verkürztes Stillen Einfluss auf die Entwicklung von Diabetes-assoziierten Autoantikörpern nehmen würden.

Außerdem wurde angenommen, dass Gluten auch bei der Entwicklung des Typ 1 Diabetes eine Rolle spielt (Bonifacio, 1998; Pociocco 1995). Diese Vermutung wird durch eine gehäufte Assoziation der beiden Krankheiten (Cronin, 1997) gestützt. Im Gegensatz zum Typ 1 Diabetes ist bei Patienten mit Typ 2 Diabetes die Frequenz von Zöliakie-Erkrankungen im Vergleich zur Normalbevölkerung nicht erhöht (Page, 1994; Walsh, 1978). Ebenso lässt eine verminderte Prävalenz von Typ 1 Diabetes-assoziiierter Autoimmunität nach Einführung einer glutenfreien Diät bei Patienten mit Zöliakie einen Zusammenhang zwischen Gluten und der Entwicklung von autoimmu-

nem Diabetes vermuten (Challacombe, 1997). Andere Studien berichten neben einer Abnahme von Transglutaminase-Autoantikörpern durch glutenfreie Ernährung nach Diagnose der Zöliakie, auch von einer Abnahme von Insel-Autoantikörpern bei glutenfreier Ernährung (Ventura, 2000; Wortsman, 1994). Im Gegensatz dazu entwickelten einige Zöliakie-Patienten bei fortgeführter glutenhaltiger Ernährung Autoantikörper wie GADA und ICA, die nicht Zöliakie- sondern Diabetes-spezifisch sind. Diese organspezifischen Autoantikörper waren nach einer sechs bis zwölf Monate andauernden glutenfreien Diät nicht mehr nachweisbar (Ventura, 2000; Hadijvassiliou, 1998).

Im Gegensatz zu Typ 1 Diabetes ist der auslösende Umweltfaktor der Zöliakie, das in verschiedenen Getreidesorten vorkommende Protein Gluten, bekannt. Ca. 60 Jahre nach der Beschreibung des Krankheitsbildes durch Samuel Gee im Jahre 1888, entdeckte der Holländer Dicke Gluten als auslösendes Agens für die Zöliakie-Erkrankung. Der genaue pathogenetische Mechanismus ist noch nicht vollständig erforscht.

#### 4.1.5 Empfehlungen für die Ernährung von Säuglingen und Kindern

Auf der Basis von wissenschaftlichen Erkenntnissen erstellte das Forschungsinstitut für Kinderernährung in Dortmund einen „Ernährungsplan für das erste Lebensjahr“ (Kersting, 2003). Dieser Plan hat sich bereits seit vielen Jahren bei der Ernährung von Säuglingen bewährt und wird auch von der Ernährungskommission der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin empfohlen.

Nach diesem Plan wird die Ernährung im ersten Lebensjahr in drei Abschnitte unterteilt:

In den ersten vier bis sechs Lebensmonaten erhält der Säugling mit Muttermilch oder einer industriell hergestellten Säuglingsmilchnahrung alles, was er für Wachstum und Entwicklung braucht. Zusätzliche Nahrungsmittel wie beispielsweise Obstsaft oder Karotten sind in diesem Zeitraum weder nötig noch erwünscht.

Ab dem 5. bis 7. Lebensmonat reicht Milch alleine nicht mehr aus, um den gesteigerten Bedarf des Kindes an Energie und Nährstoffen zu decken. Ferner lässt der Saug-

reflex nach. Deshalb sollte jetzt eine Milchmahlzeit durch einen Brei ersetzt werden. Zuerst sollte ein Gemüse-Kartoffel-Fleisch-Brei (glutenfreie Beikost) zugefüttert werden, der durch den Eisengehalt die erschöpften Eisenreserven des Säuglings auffüllen kann. Üblicherweise bekommen Säuglinge in Deutschland als erste Beikost Gemüse, wobei sich Karottenpüree bewährt hat. Gekochte Karotten empfehlen sich vor allem auch, weil sie nur selten Allergien auslösen.

Einen Monat später kann die zweite Milchmahlzeit durch einen Vollkorn-Getreide-Brei (glutenhaltige Beikost) ersetzt werden, der insbesondere wertvolles Protein und Calcium liefert. Daraus ergibt sich, dass Gluten erst ab dem 6. bis 8. Lebensmonat als Nahrungsbestandteil vorgesehen ist. Als dritter Brei folgt ein Getreide-Obst-Brei, der eine weitere Milchmahlzeit ersetzt. Die restlichen Mahlzeiten bleiben dabei wie bisher als Muttermilch oder industrielle Säuglingsmilchnahrung erhalten.

Etwa ab dem 10. Lebensmonat geht die spezielle Säuglingsernährung allmählich in die übliche Familienernährung über. Aus dem etwa gleichgroßen Milch- und Breimahlzeiten werden nun die drei Hauptmahlzeiten und zwei Zwischenmahlzeiten.

Die Verwendung von Kuhmilch im ersten Lebensjahr wird immer wieder kontrovers diskutiert. Einerseits ist Kuhmilch das Lebensmittel, das am häufigsten Allergien auslöst. Somit wird vom Forschungsinstitut für Kinderernährung in Dortmund empfohlen, Allergie-gefährdete Kinder im ersten Lebensjahr zu stillen oder als Muttermilchersatz im ersten Lebenshalbjahr mit hypoallergener Nahrung (HA-Nahrung) zu füttern, bei der das enthaltene Kuhmilcheiweiß hydrolisiert ist.

Außerdem wird ein Zusammenhang zwischen der frühen Gabe von Kuhmilch bzw. auf Kuhmilch basierender industrieller Säuglingsmilchnahrung und dem Auftreten von Typ 1 Diabetes diskutiert. Hierzu fehlen jedoch bislang Studien, die dies eindeutig beweisen. Da in der Kuhmilch wichtige Nährstoffe wie z.B. Jod, Eisen, Kupfer und essentielle Fettsäuren nicht in ausreichendem Maße enthalten sind, ist Kuhmilch als Ersatz oder Zugabe zur Muttermilch anstelle von industriell hergestellter Säuglingsmilchnahrung nicht sinnvoll.

## 4.2 Diskussion eigener Ergebnisse

### 4.2.1 Einfluss von Ernährungsfaktoren auf die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern

#### 4.2.1.1 Einfluss der Stilldauer sowie der Einführung von industrieller Säuglingsmilchnahrung auf die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern

Die Studie untersuchte, ob Stillgewohnheiten das Risiko für eine Insel-Autoimmunität verändern. Entgegen früherer Annahmen, dass eine kurze Stilldauer einen negativen Einfluss auf die Autoimmunität hätte, war bei Kindern, die gar nicht oder nur für kurze Zeit gestillt wurden, in der BABYDIAB-Studie keine erhöhte Insel-Autoantikörper-Frequenz zu verzeichnen.

In Life-table-Analysen war das Risiko für Insel-Autoantikörper bei Kindern, die nie gestillt wurden, am niedrigsten ( $n = 299$ ; 5-Jahres-Risiko 3,9%; SE 1%) und im Vergleich dazu bei Kindern, die länger als sechs Monate ausschließlich mit Muttermilch ernährt wurden am höchsten ( $n = 97$ ; 5-Jahres-Risiko 8,7%, SE 4%).

Ein Vergleich des Risikos für Insel-Autoantikörper abhängig von der ausschließlichen bzw. gesamten Stilldauer erbrachte weder bei der gesamten Population noch nach einer Aufteilung der Kinder abhängig vom erkrankten Elternteil signifikante Unterschiede. Bemerkenswerter Weise war sowohl bei der Analyse der ausschließlichen als auch der gesamten Stilldauer ein leichter, jedoch nicht signifikanter Anstieg in der Frequenz von Insel-Autoantikörpern zu verzeichnen, je länger die Kinder ausschließlich bzw. insgesamt mit Muttermilch ernährt wurden.

Kinder mit positivem bzw. negativem Status für Insel-Autoantikörper unterschieden sich nicht signifikant im Hinblick auf die Stilldauer: Die durchschnittliche Dauer der ausschließlichen bzw. gesamten Stillzeit betrug 11,4 Wochen (95% Konfidenzintervall 11,2-11,7) bzw. 18,2 Wochen (95% Konfidenzintervall 17,8-18,6) bei Insel-Autoantikörper-negativen Kindern und 11,3 Wochen (95% Konfidenzintervall 11,1-11,6) bzw. 18,1 Wochen (95% Konfidenzintervall 17,7-18,5) bei Insel-Autoantikörper-positiven Kindern.

Diese Ergebnisse zeigen, dass in der untersuchten Population von Kindern mit einem oder zwei diabetischen Elternteilen eine unterschiedlich lange ausschließliche bzw. gesamte Stilldauer keinen signifikanten Einfluss auf die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern und folglich auf eine spätere Diabetes-Manifestation haben.

Neben dem Einfluss der Stilldauer auf die Diabetes-assoziierte Autoimmunität wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit auch die Auswirkung von industriell hergestellter Säuglingsmilchnahrung auf die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern analysiert: Bei Kindern mit dem Risikogenotyp HLA DRB1\*03/04-DQ8 ergab sich ein signifikant vermindertes Risiko für Insel-Autoantikörper, wenn diese in den ersten drei Lebensmonaten mit industrieller Milchnahrung gefüttert wurden, ohne zugleich andere Beikost erhalten zu haben, verglichen mit Kindern dieser HLA-Gruppe, die in diesem Zeitraum nur gestillt wurden (8,3% versus 28,0%;  $p = 0,05$ ). In der gesamten Population zeigten sich hingegen keine signifikant unterschiedlichen Insel-Autoantikörper-Risiken, wenn die Kinder in den ersten drei Lebensmonaten nur gestillt bzw. mit industrieller Säuglingsmilchnahrung ernährt wurden (6,8% versus 5,3%).

Diese Entdeckungen bei Kindern diabetischer Eltern waren überraschend, da in einigen retrospektiven Studien berichtet wurde, dass eine verkürzte Stilldauer mit einem erhöhten Risiko für Typ 1 Diabetes einherginge (Gerstein, 1994; Borch-Johnson, 1984):

1984 berichteten erstmals Forscher bei Kindern aus Norwegen und Schweden über einen Zusammenhang zwischen der Stilldauer und dem Risiko, an Typ 1 Diabetes zu erkranken. Typ 1 Diabetiker wurden kürzer gestillt als deren nicht diabetische Geschwister und kürzer als eine nicht diabetische Kontrollgruppe aus der Allgemeinbevölkerung (Borch-Johnsen, 1984). Zehn Jahre später haben Gerstein und Mitarbeiter (Gerstein, 1994) in einer Metaanalyse 13 retrospektive Fall-Kontroll-Studien aus den Ländern Finnland, Schweden, England, Australien, USA und Italien zusammengefasst und auf das durchschnittliche Diabetes-Risiko analysiert. Hierbei ergab sich für Kinder, die kürzer als drei Monate gestillt wurden, nur ein schwach erhöhtes (durchschnittlich 1,4fach), jedoch signifikantes Risiko, an Typ 1 Diabetes zu erkranken, im Vergleich zu Kindern mit einer Stilldauer von länger als drei Monaten. Ebenso konnte zwischen der frühzeitigen Einführung von Kuhmilch-Proteinen und der Entwicklung von Typ 1 Diabetes ein schwacher, signifikanter Zusammenhang (relatives Risiko: 1,5) aufgedeckt werden. Die Daten dieser Studie ergab, dass an Typ 1 Diabetes er-

krankte Kinder mit einer höheren Wahrscheinlichkeit weniger als drei Monate gestillt wurden und bereits vor dem 4. Lebensmonat gegenüber Kuhmilch-Protein exponiert wurden (Gerstein, 1994).

Im Jahr 2000 wurden die Ergebnisse einer finnischen Studie veröffentlicht. Das „Type 1 Diabetes Prevention Project“ (DIPP) hatte sich zur Aufgabe gemacht, eine große Population an Neugeborenen mittels HLA-Klassifizierung auf ihr genetisches Risiko für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern zu screenen (Kimpimaki, 2001b). Kinder mit dem Genotyp DQB1\*02/\*0302 wurden zu einer Hochrisikogruppe zusammengefasst, für Kinder mit dem Genotyp DQB1\*0302/x (x = andere Merkmale als \*02, \*0301 oder \*0602) wurde ein moderates Risiko angenommen. Blutproben der mittels Screening entdeckten Risikokinder wurden im Abstand von wenigen Monaten auf Insel-Autoantikörper untersuchen, um eine Vorhersage über die Entstehung von Typ 1 Diabetes möglich zu machen. Zusätzlich zu den Blutuntersuchungen wurden u.a. Daten über die Säuglingsernährung gewonnen. Dabei ergaben sich Unterschiede in der exklusiven Stilldauer und im Alter bei Einführung von Kuhmilch zwischen den Kindern, die Diabetes-assoziierte Autoantikörper entwickelt hatten, verglichen mit Kindern einer Kontrollgruppe. Eine lange ausschließliche Stilldauer ( $\geq 4$  Monate) konnte im Vergleich mit einer kurzen ausschließlichen Stilldauer ( $< 2$  Monate) als protektiv gegen das Auftreten von IA-2A und gegen die Entstehung aller vier gemeinsamen Autoantikörper (ICA, IAA, GADA, IA-2A) ermittelt werden. Eine mittlere ausschließliche Stilldauer (2 - 3,9 Monate) hatte keinen Einfluss auf die Antikörperentwicklung. In ähnlicher Weise war in dieser Studie das Risiko für IA-2A etwa 4fach bzw. für alle vier Autoantikörper etwa 5fach erhöht, wenn Kuhmilch sehr früh ( $< 2$  Monate) eingeführt wurde. Hatten die Risikokinder Kuhmilch erstmals in einem mittleren Lebensalter (2 - 3,9 Monate) erhalten, war das Risiko für IA-2A etwa 5fach, das für alle vier Autoantikörper etwa 6fach erhöht im Vergleich zu einer erstmaligen Kuhmilchgabe im Alter von mindestens vier Monaten.

Die Daten der deutschen BABYDIAB-Studie stimmen mit denen anderer prospektiver Studien bei kleineren Kohorten genetisch ausgewählter Kinder überein, die ebenfalls bei nur kurze Zeit gestillten Kindern kein erhöhtes Risiko für Insel-Autoantikörper gefunden haben (Couper, 1999; Norris, 1996a).

So konnte im Gegensatz zu den oben angeführten retrospektiven Studien bei der in Denver durchgeführten prospektiven DAISY-Studie (Diabetes Autoimmunity Study of the Youth) kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Typ 1 Diabetes-Risiko

und der Stilldauer oder dem Kuhmilchkonsum gefunden werden (Norris, 1996a). Das Studienkonzept der DAISY-Studie ist dem der deutschen BABYDIAB-Studie sehr ähnlich. In der DAISY-Studie wurden 253 Kinder im Alter zwischen neun Monaten und sieben Jahren aus 171 Familien mit einem an Typ 1 Diabetes erkrankten, erstgradigen Familienmitglied regelmäßig auf  $\beta$ -Zell-Autoimmunität (IAA, GADA und IA-2A) untersucht. Außerdem wurden Daten über die kindliche Ernährung bei Eintritt in die Studie und somit prospektiv vor dem evtl. Auftreten und Bekanntwerden einer Autoimmunität gesammelt. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass Insel-Autoantikörper-negative Kinder in allen Altersklassen häufiger Kuhmilch erhalten hatten als Kinder, die später Insel-Autoantikörper entwickelten. Weiterhin waren Kinder mit Insel-Autoimmunität weniger häufig im Alter von drei Monaten anderen Nahrungsproteinen (Muttermilch ausgeschlossen) ausgesetzt gewesen, als Kinder, die keine Autoantikörper entwickelten. Dies galt besonders für Kuhmilchproteine. Im Alter von sechs Monaten hatten tendenziell weniger Autoantikörper-positive Kinder Milchprodukte bzw. Kuhmilch beinhaltende Lebensmittel, Getreide oder Obst- bzw. Gemüseproteine erhalten. Sie waren hingegen mehr gegenüber Fleischproteinen exponiert worden. Diese Ergebnisse gaben nur Tendenzen wieder, waren jedoch nicht statistisch signifikant. Als wichtiges Ergebnis der DAISY-Studie ist anzuführen, dass sich der Grad der Assoziation zwischen Insel-Autoimmunität und spezifischen Lebensmittelproteinen nicht veränderte, wenn die Stilldauer in die Berechnung mit einbezogen wurde, was darauf hindeutet, dass die Diabetes-assoziierte Autoimmunität von der Stilldauer unabhängig ist.

Diese Ergebnisse konnten auch von einer Australischen Arbeitsgruppe bestätigt werden, die die sogenannte „Australian BABY DIAB Study“ durchführt (Couper, 1999; Norris, 1996a). Hier wurden im Jahr 1993 begonnen, 317 Kinder mit an Typ 1 Diabetes erkrankten erstgradigen Verwandten prospektiv von Geburt über durchschnittlich 29 Monate zu beobachten. Die Mütter führten zu Hause Buch und beantworteten im Abstand von sechs Monaten Fragebögen über die Ernährung ihrer Kinder. Dabei wurden – ebenso wie in der BABYDIAB-Studie und der DAISY-Studie – keine systematischen Ratschläge zur Kinderernährung gegeben. In Intervallen von sechs Monaten wurden Insel-Autoantikörper (IAA, GADA und IA-2A) bestimmt. Bei der Datenauswertung ergaben sich in dieser Studie keine signifikanten Unterschiede zwischen Insel-Autoantikörper-negativen- und Insel-Autoantikörper-positiven Kindern (diese wurden in die Gruppen „transient positiv für einen Ak“, „persistierend positiv für einen Ak“ und „positiv für zwei oder mehrere Ak“ unterteilt) im Hinblick auf die Dauer

der exklusiven und gesamten Stilldauer, der Einführung von auf Kuhmilch basierender Säuglingsmilchnahrung, Kuhmilch oder Molkereiprodukten (Couper, 1999).

Um zu einer möglichen Erklärung für diese unterschiedlichen Studienergebnisse zu kommen, sollte man die verschiedenen Studienkonzepte näher betrachten: Es bestehen entscheidende Unterschiede zwischen prospektiven Studien, in denen die Studienpopulation von Geburt an beobachtet wird (z.B. BABYDIAB-Studie) und Fall-Kontroll-Studien (z.B. Studie von Borch-Johnsen und Mitarbeitern), die an bereits an Typ 1 Diabetes erkrankten Personen durchgeführt werden. Norris und Scott stellten in einer von ihnen durchgeführten Meta-Analyse die Vermutung an, dass die schwache Assoziation zwischen der frühen Gabe von Kuhmilch und dem Diabetes in retrospektiven Studien durch Fehler im Studiendesign, insbesondere einer einseitigen Ausrichtung der retrospektiv gemachten Angaben zustande gekommen sein könnte (Norris, 1996b).

Ferner befassen sich die prospektiven Studien mit Menschen, deren Verwandte an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, und die somit zu einer Risikopopulation gehören, die wiederum nur eine Minderheit in der Gruppe der Typ 1 Diabetiker darstellen. In keiner der bisher durchgeführten Fall-Kontroll-Studien wurden Personen untersucht, die Verwandte mit der entsprechenden Erkrankung hatten. Ein weiterer wichtiger Unterschied besteht darin, dass in prospektiven Studien die Auswirkung von Umweltfaktoren auf die Entwicklung von Insel-Autoimmunität betrachtet wird und nicht ausschließlich, wie in Fall-Kontroll-Studien, der Einfluss von Umweltfaktoren auf die Entwicklung von Diabetes. Die meisten der bisher als einflussnehmend diskutierten Umweltfaktoren (Stillen, Einführung von Kuhmilch, Impfungen, etc.) treten bereits früh im Leben des Kindes auf. Ebenso kommt es bereits in den ersten Lebensjahren zur Entwicklung von Diabetes-assoziierten Autoantikörpern. Der Zeitpunkt der Manifestation von Typ 1 Diabetes liegt zwar meist im Kindes- und Jugendalter, die Krankheit kann jedoch zu jedem Zeitpunkt zum Ausbruch kommen.

Möglicherweise entstand der in einigen retrospektiven Studien gefundene Zusammenhang zwischen der Stilldauer und der Inzidenz von Typ 1 Diabetes sekundär durch ein frühzeitiges Zufüttern von Beikost, die nicht ausschließlich auf einer Milchbasis aufgebaut war. Außerdem könnte es durch verschiedene Stillgewohnheiten in den einzelnen Ländern zu den unterschiedlichen Ergebnissen in den oben beschriebenen Ergebnissen gekommen sein.

Es scheint unwahrscheinlich, dass bei Kindern diabetischer Eltern eine kurze Stilldauer *per se* einen Risikofaktor für die Insel-Autoimmunität darstellt. Vielleicht hat eine lange Stilldauer einen indirekten positiven Effekt, indem sie vor der Exposition gegenüber viralen, möglicherweise diabetogenen Infektionen schützt. In Kombination mit der Exposition gegenüber anderen Einflussfaktoren könnte eine kurze Stillperiode jedoch zum Risikofaktor werden.

Die Gabe von industrieller Säuglingsmilchnahrung auf Milchbasis kann nach den oben beschriebenen Ergebnissen der BABYDIAB-Studie mindestens als neutral (Gesamtpopulation), teilweise sogar als protektiv für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern (HLA-Risikogruppe) gelten. Somit kann diese Art der Ernährung zu den neutralen Umweltfaktoren oder denen mit protektivem Einfluss gerechnet werden.

#### 4.2.1.2 Einfluss der Einführung von Beikost auf die Entstehung von Insel-Autoantikörpern

Über den optimalen Zeitpunkt der Einführung von Nahrungsbestandteilen wurde lange diskutiert. Im Allgemeinen wird angenommen, dass der Zeitpunkt der ersten Gabe eines Nahrungsmittels die Immuntoleranz gegenüber den darin enthaltenen Antigenen beeinflusst, und dadurch möglicherweise zum Erreichen der bestmöglichen Toleranz gegenüber Nahrungsmittel-Antigenen führen könnte (Schenker, 1999; Strobel, 1998). Empfehlungen bzgl. dem Zeitpunkt der Einführung glutenhaltiger Nahrung variieren zwischen verschiedenen Ländern (Hernell, 2001; Sollid, 1993). In Deutschland wird durch das Forschungsinstitut für Kinderernährung eine erstmalige Gabe frühestens im 6. Lebensmonat empfohlen. Trotz derartiger Empfehlungen wurden – wie anhand der Daten der BABYDIAB-Studie ersichtlich – in Deutschland relativ große Unterschiede beim Zeitpunkt der Fütterung entsprechender Nahrungsmittel beobachtet; der zeitlichen Empfehlung für die erstmalige Glutengabe wurde häufig nicht Folge geleistet.

Bei der Analyse der Frequenz Diabetes-assoziiertes Autoantikörper ergaben sich signifikante Unterschiede in der Frequenz abhängig vom Zeitpunkt der erstmaligen Gabe glutenhaltiger Nahrungsmittel. Der Zeitpunkt der erstmaligen Gabe von gluten-

freien Nahrungsmitteln bewirkte hingegen keine signifikanten Unterschiede beim Auftreten von Insel-Autoantikörpern.

Der Kontakt mit in der Nahrung enthaltenem Gluten vor dem vollendeten 3. Lebensmonat brachte bei der beobachteten gesamten Population ein 5fach erhöhtes Risiko (24,0%) mit sich, Diabetes-assoziierte Autoantikörper zu entwickeln, verglichen mit einer Einführung von glutenhaltiger Nahrung nach dem vollendeten 3. Lebensmonat (5,1% bei Einführung von Gluten zwischen dem 3,1 - 6. Monat, 6,0% bei Einführung von Gluten zwischen dem 6,1 - 12. Monat, 0% bei Einführung nach dem 12. Monat) ( $p = 0,003$ ). Bei Kindern mit dem Risikogenotyp HLA DRB1\*03/04-DQ8 lag das Insel-Autoantikörper-Risiko bei 100%, wenn Gluten vor dem vollendeten 3. Monat gefüttert wurde, verglichen mit 21,0% bei erstmaliger Gabe zwischen dem 3,1 - 6. bzw. 18,5% bei erstmaliger Gabe zwischen dem 6,1 - 12. Monat ( $p = 0,003$ ). Dies entspricht einem mehr als 7fach erhöhten Risiko für Insel-Autoantikörper bei Einführung von Gluten vor dem vollendeten 3. Lebensmonat verglichen mit einer späteren Einführung. Alle vier Kinder der HLA-Risiko-Gruppe, denen Gluten bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat gegeben worden war, entwickelten nicht nur einen, sondern multiple Insel-Autoantikörper. Bei keinem der Kinder, denen glutenhaltige Nahrungsmittel erstmalig nach dem vollendeten ersten Lebensjahr gegeben wurden, kam es zur Entwicklung von Insel-Autoantikörpern.

62 Kinder wurden bereits innerhalb der ersten drei Lebensmonate mit anderer Nahrung als Muttermilch und industriell hergestellte Säuglingsmilchnahrung gefüttert. Unter diesen 62 Kindern waren 45 Kinder, die in diesem Zeitraum nur glutenfreie Beikost und keine glutenhaltige Nahrung erhalten hatten. Keines dieser Kinder entwickelte Zeichen von Autoimmunität. Die restlichen 17 Kinder erhielten zusätzlich in den ersten drei Lebensmonaten glutenhaltige Beikost. Aus dieser Gruppe entwickelten vier Kinder Insel-Autoantikörper.

Die Ergebnisse der deutschen BABYDIAB-Studie stimmen teilweise mit denen der amerikanischen DAISY-Studie überein: Bei der bereits oben beschriebenen DAISY-Studie (Diabetes Autoimmunity Study of the Youth) handelt es sich um eine prospektive Studie, die Kinder untersucht, deren Diabetes-Risiko entweder durch einen Hochrisiko-Genotyp oder durch eine erstgradige Verwandtschaft zu einem Typ 1 Diabetiker erhöht ist. Das durchschnittliche Alter bei der letzten Untersuchung lag bei der 1268 Kinder umfassenden Kohorte bei  $3,7 \pm 2,1$  Jahren. Zur Untersuchung des Einflusses der erstmaligen Glutengabe wurden drei Zeitintervalle gebildet: Gluten

zwischen dem 1. - 3. Lebensmonat, zwischen dem 4. - 6. Lebensmonat und nach dem 6. Lebensmonat. Bei der Berechnung des Risikos für Insel-Autoantikörper ergab sich im Vergleich zur Referenz (Einführung von Gluten zw. 4. - 6. Monat) ein 2,6fach erhöhtes Risiko, wenn Getreideprodukte zwischen dem 1. - 3. Monat gegeben wurden. Bei einer Gabe nach dem 6. Lebensmonat wurde in dieser Studie – im Gegensatz zur BABYDIAB-Studie – ein 3,8fach erhöhtes Risiko für Autoimmunität ermittelt (Norris, 2002).

#### 4.2.1.3 Assoziation zwischen Typ 1 Diabetes und Zöliakie – Gluten als Ursache?

Bei der Beantwortung der Frage nach einem Zusammenhang zwischen der Einführung von Gluten und der Entwicklung von Diabetes-assoziierten Autoantikörpern sind die Ergebnisse von Ernährungsmodulationen am Tiermodell wichtig:

Das klassische Tiermodell für Untersuchungen der Pathogenese, Therapie und Prävention des Typ 1 Diabetes ist die non-obese diabetic Maus (NOD-Maus). Vor allem weibliche Tiere dieses Inzucht-Stammes entwickeln mit einer Inzidenz von ca. 80% spontan einen autoimmunen Diabetes, der in der Pathogenese Ähnlichkeiten mit dem Typ 1 Diabetes hat. So sind auch bei den NOD-Mäusen meistens vor Ausbruch des Diabetes Insulin-Antikörper messbar und die Inselzellen des Pankreas zeigen die auch für den humanen Typ 1 Diabetes typische Infiltration mit Lymphozyten (Insulitis) (Abiru, 2001; Yu, 2000).

Funda konnte bereits 1999 in einem Fütterungsversuch bei NOD-Mäusen unter glutenfreier Diät der Zuchttiere während der Schwangerschaft und Stillzeit sowie der NOD-Mäuse ab dem Zeitpunkt der Geburt eine signifikante Verringerung der Diabetes-Inzidenz im Vergleich zu Kontrolltieren erzielen (Funda, 1999).

Auch im Rahmen einer Studie am Institut für Diabetesforschung (Schmid, 2004) konnte durch glutenfreie Ernährung von NOD-Mäusen eine signifikante Verringerung des kumulativen Diabetes-Risikos sowie eine signifikante Verlängerung der medianen diabetesfreien Überlebenszeit im Vergleich zu den mit Standardnahrung gefütterten Tiere erreicht werden. Dabei lagen in der Gruppe von Tieren, die lebenslang ohne Weizen und Gersten ernährt wurden, sowohl die Titer für IAA als auch die Anzahl der Mäuse mit Insulitis signifikant unter denen der Kontrollgruppe, in der diese

Diät nicht verabreicht wurde. Es reichte aus, wenn Weizen und Gerste sofort am Ende der Stillperiode aus der Nahrung genommen wurden, um bei den Mäusen eine signifikant geringere Diabetes-Manifestation zu erzielen. Durch eine Vermeidung von Weizen und Gerste ausschließlich während der Schwangerschaft und Stillperiode konnte die Diabetes-Inzidenz bei NOD-Mäusen hingegen nicht verringert werden (Schmid, 2004).

2002 ergaben Versuche, dass NOD-Mäuse und BB-Ratten eine hohe Diabetes-Inzidenz haben, wenn sie mit einer milchfreien, auf Weizen basierenden Nahrung gefüttert werden (Beales, 2002). MacFarlane und Mitarbeiter wiesen wenig später nach, dass BB-Ratten, die mit einer Nahrung gefüttert wurden, in der Weizen-Gluten die einzige Proteinquelle war, nahezu 3fach so häufig Diabetes entwickeln, als Tiere, die mit einer Nahrung auf Basis von hydrolysiertem Casein ernährt wurden (MacFarlane, 2003).

Die an Menschen im Rahmen der BABYDIAB-Studie gewonnen Erkenntnisse, die dieser Arbeit zugrunde liegen, entsprechen den oben angeführten Ergebnissen aus Tierversuchen: Die Gabe von industriell hergestellter Säuglingsmilchnahrung, die auf Kuhmilchbasis hergestellt wurde, erbrachte keinen Anstieg in der Frequenz von Insel-Autoantikörpern. Im Gegenteil zeigte sich industrielle Säuglingsmilchnahrung in der Gesamtpopulation als neutral, in der HLA-Risikogruppe sogar als protektiv bezüglich einer Insel-Autoimmunität. Durch eine zeitlich spätere erstmalige Glutengabe – entsprechend der Vermeidung von Weizen und Gerste am Ende der Stillperiode im Tierversuch – konnte die Insel-Autoimmunität im Vergleich zu Kindern, die Gluten bereits in den ersten drei Lebensmonaten erhielten, signifikant vermindert werden. Gluten zeigte sich hierdurch als ein äußerst potenter Risikofaktor, der bei frühzeitiger Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln in die kindliche Ernährung sowohl in der gesamten Population als auch insbesondere bei der HLA-Risikogruppe zu einem signifikant erhöhtem Risiko für Insel-Autoimmunität führt.

Auch weitere epidemiologische Untersuchungen am Menschen weisen auf einen Zusammenhang der Glutenexposition und der Diabetesentstehung hin: Treten Zöliakie und andere Autoimmunerkrankungen gemeinsam auf, wird die Zöliakie zeitlich meist nach den anderen Autoimmunerkrankungen, also auch nach dem Typ 1 Diabetes, diagnostiziert und dadurch spät mit glutenfreier Ernährung behandelt (Cronin, 1997; Corazza, 1995; Collin, 1994). In einer von Ventura und Mitarbeitern durchge-

fürten Studie wurde Zöliakie in 22,5% der Fälle zeitlich vor anderen Autoimmunerkrankungen diagnostiziert; andere Immunerkrankungen wurden hingegen in 77,5% der Fälle vor der Zöliakie erkannt (Ventura, 1999). Vergleicht man die Autoimmunität bei den gleichen Kindern, so fällt auf, dass die Zöliakie-assoziierte Autoimmunität später und dann zeitlich schneller einsetzt als die Diabetes-assoziierte Autoimmunität (Ziegler, 1999a).

Dieser zeitliche Zusammenhang konnte auch bei der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Studienpopulation bestätigt werden. Das Alter bei erstmaligem Auftreten von Diabetes-assoziierten Antikörpern lag durchschnittlich bei 2,0 Jahren, das durchschnittliche Alter bei Diabetesmanifestation lag bei 5,3 Jahren. Im Vergleich dazu wurden die ersten Zöliakie-assoziierten Antikörper im Alter von 2,9 Jahren gemessen, die Erkrankung manifestierte sich durchschnittlich im Alter von 6,1 Jahren.

Der genaue Mechanismus, durch den Gluten das Risiko für autoimmunen Diabetes erhöht, ist noch unklar. Verschiedene Mechanismen können angenommen werden: Eine sehr frühe Gabe von Gluten könnte zur Entzündung im Darm führen und/oder das Immunsystems verändern. Es könnte eine gesteigerte Immunantwort auf Gluten selbst oder auf assoziierte Antigene geben ebenso wie eine Vermehrung von autoreaktiven oder Verminderung von regulierenden Zellpopulationen. Alternativ dazu könnte Gluten zu Veränderungen in den  $\beta$ -Zellen führen, die bei Neugeborenen noch unreif sein können.

Von Bedeutung sind an dieser Stelle Vergleiche der Pathomechanismen der Diabetes- und der Zöliakie-assoziierten Autoimmunität:

Die Prävalenz einer diabetischen Insel-Autoimmunität ist nach Verzicht auf glutenhaltige Nahrungsmittel bei Zöliakie-Patienten geringer, was einen gemeinsamen Pathomechanismus der beiden Erkrankungen vermuten lässt (Ventura, 2000). Von möglicher Relevanz ist die Beobachtung, dass es zu keiner Titererniedrigung der Insel-Autoantikörper kommt, wenn man bei Insel-Autoantikörper-positiven Personen eine glutenfreie Diät durchführt (Hummel, 2002). Eine glutenfreie Diät bewirkt hingegen eine Verbesserung der  $\beta$ -Zellfunktion und der Insulinsensitivität (Pastore, 2002). Diese Angaben würden die Annahme eines Mechanismus unterstützen, der davon ausgeht, dass Nahrungsgluten die  $\beta$ -Zellfunktion verändert.

Bei der Zöliakie und dem Typ 1 Diabetes konnte ein ähnlicher autoimmuner Pathomechanismus nachgewiesen werden, bei dem es zur Entwicklung von organspezifischen Autoantikörpern (Dieterich, 1997; Bonifacio, 1990) und T-Lymphozyten-Infiltrationen an Stellen der krankhaften Gewebeveränderung (Vaarala, 1999b, Marsh, 1992) kommt. Bei Patienten mit neu diagnostiziertem Typ 1 Diabetes tragen die mit dem Inselzell-Antigen GAD reagierenden Leukozyten ein  $\alpha 4\beta 7$ -Integrin, das normalerweise bei Darm-spezifischen Rezeptoren vorkommt. Dies deutet darauf hin, dass diese autoreaktiven Lymphozyten aus dem Darm stammen und die Toleranz gegenüber Autoantigenen durch die Lymphozytenpopulation des Darmes gestört wird, was auch im Rahmen der Pathogenese der Zöliakie angenommen wird (Paronen, 1997).

Kürzlich gab ein Tiermodell weitere Hinweise darauf, dass der Pathogenese der Gluten-assoziierten Immunität ein immuner Mechanismus zugrunde liegt (MacFarlane, 2003): Die Diabetes-Entwicklung war in diesem Modell mit dem Auftreten von einem Weizenprotein assoziiert, das hoch homolog mit dem Weizen-Speicher-Protein G1b1 war. Antikörper gegen ein ähnliches Protein konnten auch bei Kindern mit Typ 1 Diabetes gefunden werden.

Um zu untersuchen, ob ausschließlich die Gliadin-Komponente des Weizens diabetogen ist, wurde am Institut für Diabetesforschung in München eine Studie am Tiermodell durchgeführt. Dabei unterschied sich die Diabetes-Inzidenz bei Mäusen nicht signifikant, wenn diese mit einer weizen- und gersteproteinfreien Nahrung unter Zusatz von Gliadin ernährt wurden, oder nur weizen- und gerstefreies Futter erhielten. Daraus lässt sich schließen, dass Gliadin zumindest *nicht alleine* für die Veränderung der Diabetes-Entwicklung verantwortlich ist (Schmid, 2004). Wie kürzlich von finnischen Forschern berichtet wurde, scheinen zusätzlich andere, mit Weizenproteinen verbundene Komponenten Auslöser der Insulinitis zu sein (MacFarlane, 2003).

### 4.3 Einfluss von Ernährungsfaktoren auf die Entwicklung von Zöliakie-assoziierten Antikörpern (tTGC-Ak)

Ebenso wie im Hinblick auf die durchschnittliche exklusive bzw. gesamte Stilldauer unterschieden sich Kinder mit tTGC-Antikörpern auch bezüglich des Zeitpunktes der Einführung von Beikost nicht signifikant von der Gesamtpopulation.

Das Risiko für tTGC-Antikörper war weder mit der Dauer des Stillens noch mit dem Alter bei Einführung von Beikost signifikant assoziiert.

Die Aussage von Mäki et al. (Roll, 1994), dass mit einer zunehmenden Stilldauer das Alter der Krankheitsmanifestation nach oben verschoben würde, konnte in der BABYDIAB-Studie nicht bestätigt werden.

Es wurde angenommen, dass das Risiko einer Autoimmunität in Form von Zöliakie erhöht ist, wenn Gluten spät in die Nahrung eingeführt wird (Ivarsson, 2000; van de Wal, 1998). Andere Studien zeigten hingegen, dass die Menge an Gluten eine wichtigere Determinante für die Entwicklung der Zöliakie ist als der Zeitpunkt der Einführung (Strobel, 1998; Maki, 1992).

Die BABYDIAB-Studie fand keine Assoziation zwischen dem Zeitpunkt der ersten Glutenexposition und der Entwicklung von IgA-tTGC-Ak, dem Autoantikörper-Marker der Zöliakie. Um zu überprüfen, ob der IgA-tTGC-Ak-Titer direkt nach Glutenexposition steigt und somit die erste Glutenexposition der Auslöser für die Entstehung Zöliakie-assoziiertes Antikörper ist, wurden bei einigen BABYDIAB-Nachkommen (Kinder deren Eltern angaben, bereits vor dem vollendeten dritten Lebensmonat glutenhaltige Nahrung gefüttert zu haben) Antikörper gegen das Glutenprotein Gliadin in der 9-Monats Serumprobe getestet. Dabei wurde keine Erhöhung im Titer oder in der Häufigkeit bei Kindern gefunden, die Gluten bereits vor dem 3. Monat bekommen haben. Möglicherweise wären die Antikörper-Antworten bei einer Messung, die zeitgleich mit der Gluteneinführung stattfindet (nicht erst im Alter von neun Monaten), deutlicher gewesen.

Alle Kinder, die tTGC-Antikörper entwickelten, bekamen das erste Mal Gluten zwischen dem 3. und dem 12. Monat. Das Risiko lag bei Kindern, die Gluten erst nach dem 6. Monat bekommen hatten, nur geringfügig niedriger. Eine spätere Einführung von Gluten hatte auch keinen Einfluss auf das Risiko der Typ 1 Diabetes-assoziierten Insel-Autoantikörper bei Kindern der BABYDIAB-Studie. Interessant ist, dass in einigen Familien, in denen bereits Fälle von Zöliakie aufgetreten waren, Gluten sehr spät

(nach dem vollendeten 1. Lebensjahr) eingeführt wurde. Keines dieser Kinder entwickelte Typ 1 Diabetes- oder Zöliakie-assoziierte Autoantikörper, was wiederum vermuten lässt, dass eine späte Gabe von Gluten das Risiko einer Autoimmunität nicht erhöht.

Im Hinblick auf die direkte Verbindung zwischen Gliadin in Nahrungsmitteln und der Zöliakie scheint es überraschend, dass eine frühe Gabe von glutenhaltiger Kost mit Insel-Autoantikörpern, nicht jedoch mit Zöliakie-Antikörpern einhergeht. TTGC-Antikörper entstehen relativ spät in dieser Kohorte (später als Insel-Autoantikörper) und die Zöliakie ist oft klinisch „silent“ und dadurch uncharakteristisch im Vergleich zur klinisch ausgeprägten Zöliakie des frühen Kindesalters.

Es ist möglich, dass eine Assoziation zwischen dem Alter der ersten Glutenexposition und der Autoimmunität im Rahmen der Zöliakie bei längerer Nachverfolgung auftreten würde. Ebenfalls könnte es sein, dass die Ergebnisse dieser Studie, die an einer Risikopopulation für Typ 1 Diabetes durchgeführt wurde, nur das Risiko für die silente Form der Zöliakie und nicht das Risiko für die in der frühen Kindheit auftretende, deutlich ausgeprägtere Form der Erkrankung, widerspiegelt.

#### 4.4 Validität der Daten

Die Studie könnte aufgrund von Fehlern, die durch die teilweise retrospektive Befragung über den Zeitpunkt der erstmaligen Glutengabe entstanden sind, oder durch die fehlenden Angaben einiger Studienteilnehmer nicht signifikant sein.

Dies kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Die Daten über den jeweiligen Zeitpunkt der Einführung glutenhaltiger Kost wurden prospektiv durch die Familien festgehalten, aber retrospektiv durch Telefonate abgefragt. Dies stellt eine mögliche Schwachstelle des Studiendesigns dar. Alle übrigen Daten der Studie wurden in sämtlichen Fragestellungen mittels Fragebögen bei den jeweiligen Nachuntersuchungen im Alter von 9 Monaten, 2, 5, 8 und 11 Jahren prospektiv erhoben. Um festzustellen, ob die Telefonanrufe bei den Familien dazu geeignet waren, den Zeitpunkt der Einführung glutenhaltiger Nahrung zu ermitteln, wurden die Familien telefonisch zusätzlich nach der exklusiven und gesamten Stilldauer gefragt. Der Vergleich dieser retrospektiv erhobenen Stilldaten mit den mittels Fragebögen bei der 2-Jahres-

Nachuntersuchung prospektiv erhobenen Stilldaten zeigte eine hohe Konkordanz ( $r = 0,90$  und  $0,93$ ;  $p < 0,0001$ ).

Zusätzlich wurden der Zeitpunkt des ersten Beifütterns glutenfreier Beikost und die Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln mit der prospektiv erhobene exklusive Stilldauer verglichen, wobei sich eine signifikante Korrelation zwischen diesen Variablen zeigte. Eine einseitige und damit fehlerhafte Beeinflussung der Daten durch Fehlen von Angaben scheint unwahrscheinlich, da sich die Familien, die keine Angaben zur Gabe glutenhaltiger Nahrung machen konnten, in Bezug auf die Anzahl der Nachuntersuchungen und auf die Insel-Autoantikörper-Frequenz nicht von den Familien unterschieden, die darüber Auskunft geben konnten.

## **5. Zusammenfassung**

Typ 1 Diabetes ist eine chronische Autoimmunerkrankung, bei der neben einer genetischen Prädisposition auch Umweltfaktoren als Trigger bzw. Auslöser der Erkrankung eine Rolle spielen. Bereits einige Jahre vor der klinischen Manifestation lassen sich im Blut Insel-Autoantikörper (IAA, ICA, GADA und IA-2A) nachweisen. Dies deutet darauf hin, dass für die Entstehung der Erkrankung entscheidende Faktoren schon sehr früh im Leben auf das Immunsystem einwirken.

Bei Typ 1 Diabetikern tritt im Vergleich zur Normalbevölkerung eine deutlich erhöhte Prävalenz von Zöliakie, insbesondere der silenten Form, auf. Außerdem ist die Prävalenz einer diabetischen Inselzell-Autoimmunität nach Verzicht auf glutenhaltige Nahrungsmittel bei Zöliakie-Patienten geringer (Ventura, 2000), was einen gemeinsamen Pathomechanismus der beiden Erkrankungen vermuten lässt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rolle der Ernährung in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes und der Zöliakie zu untersuchen und damit zur Entwicklung eines Studienkonzeptes zur Primärprävention des Typ 1 Diabetes beizutragen.

Dazu wurde im Rahmen der BABYDIAB-Studie bei Kindern, deren Väter und/oder Mütter an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, prospektiv untersucht, ob Ernährungsgewohnheiten im ersten Lebensjahr Einfluss auf das Risiko haben, Diabetes- und/oder Zöliakie-assoziierte Autoimmunität zu entwickeln. Weiterhin wurde gefragt, ob bei Kindern mit erstgradigen Verwandten mit Typ 1 Diabetes die Dauer des Stillens, der Zeitpunkt der Einführung von industriell hergestellter Säuglingsmilch, die auf Kuhmilch basiert, und von Beikost oder das Alter bei erstmaliger Gabe von Gluten beinhaltenden Nahrungsmitteln Einfluss auf die Prävalenz von Diabetes- und/oder Zöliakie-spezifischen Autoantikörpern haben.

In der Studie konnte kein Einfluss von Stillgewohnheiten auf das Risiko für eine Insel-Autoimmunität beobachtet werden:

Aufgrund der Ergebnisse anderer Studien wurde vermutet, dass eine kurze Stilldauer zu einer erhöhten Insel-Autoantikörper-Frequenz führt. In der BABYDIAB-Studie war insbesondere in der Gruppe von Kindern, die nie oder nur kurz gestillt wurden, keine erhöhte Insel-Autoantikörper-Frequenz zu verzeichnen. Kinder, die nie ausschließlich

gestillt wurden, hatten ein kumulatives Risiko für Insel-Autoantikörper von  $4,3\% \pm 1\%$ , im Vergleich zu  $6,4\% \pm 1\%$  bei Kindern, die bis zu 3 Monaten nur gestillt wurden bzw.  $6,5\% \pm 1\%$  bei Kindern mit einer ausschließlich Stilldauer von 3,1 bis 6 Monaten und  $8,7\% \pm 4\%$  bei einer Ernährung nur mit Muttermilch über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten.

Auch eine unterschiedlich lange Gesamtstilldauer blieb ohne signifikanten Einfluss auf das Risiko für Diabetes-assoziierte Autoimmunität: Das Risiko für Insel-Autoantikörper unterschied sich bei Kindern, die keine Muttermilch erhalten hatten ( $3,9\% \pm 1\%$ ), nicht signifikant von dem Risiko bei Kindern, die bis zu 3 Monaten ( $5,2\% \pm 1\%$ ), 3,1 bis 6 Monate ( $7,1\% \pm 2\%$ ), 6,1 bis 12 Monate ( $7,1\% \pm 1\%$ ) oder länger als 12 Monate (0%) gestillt und ggf. gleichzeitig z.B. mit industrieller Säuglingsmilchnahrung zugefüttert wurden.

Bei Betrachtung der gesamten untersuchten Population unterschieden sich die Frequenzen von Insel-Autoantikörpern nicht signifikant voneinander, wenn die Kinder, in den ersten drei Lebensmonaten industriell hergestellte Säuglingsmilchnahrung auf Kuhmilchbasis erhalten hatten, im Vergleich zu den Kindern, die in diesem Zeitraum ausschließlich gestillt wurden ( $6,8\%$  versus  $5,3\%$ ). Ein signifikant unterschiedliches Risiko für Insel-Autoantikörper ergab sich jedoch für Kinder der HLA-Risiko-Gruppe DRB1\*03/04-DQ8: Das Risiko lag mit  $8,3\%$  signifikant niedriger, wenn diese Kinder in den ersten drei Lebensmonaten mit industrieller Milchnahrung gefüttert wurden, ohne zugleich andere Beikost zu erhalten, verglichen mit  $28,0\%$  bei Kindern dieser HLA-Gruppe, die in diesem Zeitraum nur gestillt wurden ( $p = 0,05$ ).

Die Studie zeigte, dass eine Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln vor dem vollendeten 3. Lebensmonat bei Kindern, deren Eltern an Typ 1 Diabetes erkrankt sind, ein signifikanter und äußerst potenter Risikofaktor für die Entwicklung von Typ 1 Diabetes-assoziierten Autoantikörpern ist. Eine Gabe von glutenfreier Beikost oder auf Kuhmilch basierender industriell hergestellter Säuglingsmilchnahrung brachte hingegen kein erhöhtes Risiko für Insel-Autoantikörper mit sich.

Bereits im Alter von zwei Jahren konnten signifikante Unterschiede bei der Entwicklung von Insel-Autoantikörpern festgestellt werden: Das kumulative Risiko für die Entwicklung von Insel-Autoantikörpern betrug im Alter von zwei Jahren  $17,7\%$  bei glutenhaltiger Ernährung vor dem vollendeten 3. Lebensmonat im Vergleich zu  $3,4\%$  bei späterer Einführung von glutenhaltigen Nahrungsmitteln. Im Alter von fünf Jahren

hatten Kinder, die bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat mit glutenhaltigen Nahrungsmitteln gefüttert wurden, ein Risiko für Insel-Autoimmunität von 24,0%, im Vergleich 5,6% bei Kindern, denen derartige Produkte erst nach dem 3. Lebensmonat gegeben wurden.

Das Risiko war dabei für die Entwicklung von IAA ebenso erhöht (24% versus 4%;  $p < 0,0001$ ) wie für die Entwicklung von GADA (24% versus 4%;  $p < 0,0001$ ) und IA-2A (19% versus 3%;  $p < 0,0001$ ).

Auch das Risiko für die Entwicklung von multiplen Insel-Autoantikörpern lag bei dieser Gruppe mit 17,7% im Vergleich zu 2,6% bei erstmaliger glutenhaltiger Kost nach dem vollendeten 3. Lebensmonat signifikant höher.

Wurde glutenhaltige Nahrung hingegen erstmalig zwischen dem 4. und 6. Lebensmonat gegeben, war das Risiko für die Entstehung von Insel-Autoantikörper nicht signifikant erhöht (5,1%) im Vergleich zu Kindern, die derartige Nahrungsmittel im Alter von 6 bis 12 Monaten (6,0%) zum ersten Mal zu Essen bekommen hatten. Von Bedeutung ist auch, dass das Risiko für Autoimmunität nicht signifikant erhöht war, wenn Gluten verhältnismäßig spät eingeführt wurde. So lag das Risiko bei einer erstmaligen Gabe nach dem vollendeten ersten Lebensjahr in der untersuchten Population bei 0%.

Spezielle Beachtung fand die Ernährung von Kindern mit dem Risikogenotyp HLA DRB1\*03/04-DQ8. Bei diesen Kindern ist das Insel-Autoantikörper-Risiko mit durchschnittlich 20,5% deutlich erhöht. Alle Kinder (100%;  $p = 0,008$ ) mit diesem Genotyp, die Gluten vor dem vollendeten 3. Lebensmonat bekommen hatten, entwickelten multiple Insel-Autoantikörper und hatten damit ein 6fach erhöhtes Risiko im Vergleich zu Kindern mit dem gleichen Genotyp, die Gluten erst nach dem vollendeten 3. Lebensmonat erhalten hatten (16,7% Insel-Autoantikörper-positive Kinder).

Das Risiko für das Auftreten von Zöliakie-assoziierten Antikörpern (tTGC-Antikörper) war weder mit der Dauer des Stillens noch mit dem Alter bei Einführung von glutenfreier oder glutenhaltiger Beikost signifikant assoziiert.

Eine frühe Gabe von glutenhaltiger Kost ging somit nur mit einer signifikanten Erhöhung der Frequenz von Insel-Autoantikörpern, nicht jedoch mit Zöliakie-assoziierten Autoantikörpern einher.

Kinder, die nie ausschließlich gestillt wurden, hatten mit 2,2% ein ähnliches Risiko für tTGC-Antikörper wie Kindern, die maximal drei Monate (1,7%), zwischen drei und sechs Monaten (2,1%) oder länger als sechs Monate (0%) ausschließlich gestillt

wurden. Auch bei der Betrachtung der gesamten Stilldauer zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf die Entwicklung Zöliakie-assoziiierter Antikörper. Die Frequenzen von tTGC-Antikörpern lagen je nach Dauer der Ernährung mit Muttermilch zwischen 0% und 2,6%.

Ebenso erbrachte die Einführung von glutenfreier Beikost zu verschiedenen Zeitpunkten keine signifikanten Veränderungen in der Häufigkeit der tTGC-Antikörper. Wurde den Kindern bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat glutenfreie Beikost gefüttert, lag das Risiko für tTGC-Antikörper bei 2,0% im Vergleich zu 1,9% bei einer derartigen Ernährung zwischen dem 3,1 und 6. Lebensmonat bzw. zu 1,7% nach dem 6. Lebensmonat.

Unterschiedliche Zeitpunkte der Einführung glutenhaltiger Nahrungsmittel hatten in der untersuchten Studienpopulation keinen Einfluss auf das Risiko für tTGC-Antikörper: Sowohl bei Kindern, die bereits vor dem vollendeten 3. Lebensmonat glutenhaltige Nahrung bekommen hatten, als auch bei Kindern, die erst nach dem vollendeten 12. Lebensmonat derartige Produkten aßen, lag die Frequenz von tTGC-Ak bei 0%. Erhielten die Kinder zwischen dem 3,1. und dem 6. Lebensmonat Gluten, unterschied sich das Risiko für tTGC-Ak nicht signifikant von 2,1% bei einer Glutengabe zwischen dem 6,1. und 12. Lebensmonat.

Die erhobenen Daten lassen vermuten, dass die Inzidenz und Prävalenz von Typ 1 Diabetes deutlich reduziert werden könnte, wenn sich alle Familien an die Empfehlungen kindlicher Ernährungsrichtlinien (erste Glutengabe ab dem 6. Lebensmonat) hielten oder zumindest Gluten nicht vor dem vollendeten 3. Lebensmonat einführen würden. Diese Empfehlung sollte besonders bei Diabetes-Risikogruppen wie z.B. Kindern von Typ 1 Diabetikern, die zusätzlich einen HLA-Risiko-Genotypen (HLA DRB1\*03/04-DQ8 oder DRB1\*03 DQB1\*03 DQB1\*02) tragen, Beachtung finden. Da die Vorhersagekraft der Insel-Autoantikörper für einen später auftretenden Typ 1 Diabetes bei über 50% liegt, folgt auch, dass auch die Inzidenz von Typ 1 Diabetes durch Vermeiden einer frühen Glutengabe gesenkt werden könnte. Die Reduktion der Diabetes-Inzidenz könnte besonders in Ländern, in denen Gluten früh eingeführt wird, beträchtlich sein. Dies trifft vor allem dann zu, wenn die hier dargestellten Ergebnisse, die bei Kindern diabetischer Eltern gefundenen wurden, auch bei Kindern nicht-diabetischer Eltern gelten, die einen Großteil der Typ 1 Diabetiker ausmachen.

## **6. Ausblick: Bedeutung der Ergebnisse für präventive Studien**

Auf der Grundlage der Ergebnisse der BABYDIAB-Studie und der durch die vorliegende Arbeit gewonnenen Erkenntnisse, wurde am Institut für Diabetesforschung in München unter der Leitung von Frau Professor Anette-G. Ziegler eine neue Studie ins Leben gerufen. Ziel dieser so genannten BABYDIÄT-Studie ist, bei Kindern mit einem an Typ 1 Diabetes erkrankten erstgradigen Verwandten und zusätzlichem HLA-Risikotyp durch eine diätetische Intervention während der ersten zwölf Lebensmonate die frühe Entstehung der Inselautoimmunität und damit letztlich des Typ 1 Diabetes zu verhindern (Schmid, 2002). Ferner soll durch engmaschige immunologische Verlaufkontrollen und detaillierte Erfassung von Umweltfaktoren die Entstehung der Insel-Autoimmunität aufgeklärt werden.

Bei einem genetischen Screening sollen Diabetesrisiko-Kinder im Alter von maximal drei Monaten durch den Nachweis der Genotypen HLA DR3/4, DQB1\*57non-Asp oder DR4/4, DQB1\*57non-Asp identifiziert werden. Die Kinder, die bei diesem genetischen Suchtest als Risikokinder gefunden wurden und einen erstgradigen Verwandten (Eltern, Geschwister) mit Typ 1 Diabetes haben, haben unbehandelt ein Risiko von 20-40%, innerhalb der ersten fünf Lebensjahre Autoantikörper gegen die Inselzellen des Pankreas als Zeichen einer beginnenden Inselzellzerstörung zu entwickeln. Damit liegt das Risiko 10fach höher als bei Kindern ohne die entsprechenden Genotypen (Antikörperpositivität 2,5%).

Den Kindern mit Hoch-Risikomerkmale wird die Teilnahme an engmaschigen Untersuchungen und diätetische Intervention empfohlen. Die BABYDIÄT-Studie wird als offene randomisierte kontrollierte Studie durchgeführt. Dabei erhält die Hälfte der rekrutierten Kinder bis zum Ende des ersten Lebensjahres eine glutenfreie Ernährung, die andere Hälfte (gemäß den Empfehlungen im Säuglingsalter) eine Exposition gegenüber Gluten im 6. Lebensmonat. Die in BABYDIÄT eingeschlossenen Kinder werden ab dem 3. Lebensmonat in dreimonatigen Intervallen bis zum dritten Lebensjahr nachuntersucht. Bei allen Nachuntersuchungen wird Blut abgenommen sowie Stuhl und Urinproben gesammelt. Bei den Untersuchungen werden Insel-Autoantikörper, Antikörpersubklassen und Epitope sowie die T-Zellreaktivität gegen Diabetes-spezifische Antigene, Impfantigene und Nahrungsmittelantigene bestimmt. Durch die Untersuchung von Blut, Stuhl und Urin sollen mögliche virale (Coxsackie-Viren, Ro-

taviren) oder bakterielle Erreger als potentielle Auslöser einer Autoimmunreaktion erfasst werden. Die Untersuchung der Zöliakie-assoziierten Autoimmunität bzw. der Zöliakie erfolgt durch die Bestimmung der Antikörper gegen die Gewebetransglutaminase C (tTGC-Ak) und durch Biopsien bei Anti-tTG-IgA positiven Personen. Die Ernährung der Kinder innerhalb der ersten drei Lebensjahre wird mit Hilfe von Wochenprotokollen evaluiert. Nach dem dritten Lebensjahr sind jährliche Nachuntersuchungen mit oralen Glukosetoleranztests bzw. Insel-Autoantikörper-Untersuchungen und ggf. Darmbiopsien geplant.

Der Großteil der mittels des HLA-Screenings untersuchten Kinder wird keine Hochrisikomerkmale aufweisen. Bei diesen Kindern sollten in Anlehnung an die BABY-DIAB-Studie Nachuntersuchungen in größeren Zeitabständen stattfinden, bei denen Diabetes-assoziierte Autoantikörper gemessen werden, ohne jedoch eine Ernährungsmodifikation vorzunehmen.

## **7. Literaturverzeichnis**

- Abiru N, Yu L, Dongmei M, Maniatis AK, Liu E, Moriyama H, Eisenbarth GS: Transient Insulin Autoantibody Expression Independent of Development of Diabetes: Comparison of NOD and NOR strains. *Journal of Autoimmunity*. 2001; 17: 1-6
- Akerblom HK, Knip M: Putative environmental factors in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Rev*. 1998; 14: 31-67
- Atkinson MA, Eisenbarth GS: Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*. 2001; 358; 221-229
- Atkison M, Honeyman M, Peakman M, Roep B: T-cell markers in type 1 diabetes: progress, prospects and realistic expectations. *Diabetologia* 2000; 43: 820-821
- Atkinson MA, Ellis MT: Infants diets and insulin-dependent diabetes: evaluating the "cows`milk hypothesis" and a role for anti-bovine serum albumin immunity. *J Am Coll Nutr*. 1997; 16: 334-340
- Atkinson MA, MacLaren NK: The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*. 1994; 332: 1428-1436
- Badenhoop K, Böhm BO, Häring HU, Usadel K.-H.: Klassifikation, Ätiologie, Pathogenese, Epidemiologie, Verlauf und Prognose. In Mehnert H, Schöffling K, Standl E, Usadel K.-H (Hrsg.): *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Thieme Verlag, Stuttgart, 1994
- Baum H, Davies H, Peakman M: Molekulare mimicry in the MHC: hidden clues to autoimmunity? *Immunol. Today*. 1996; 17: 68-70
- Bazzigaluppi E, Lampasona V, Barea G, Venerando A, Bianchi C, Chiumello G, Bonifacio E, Bosi E: Comparison of tissue transglutaminase-specific antibody assays with established antibody measurements for coeliac disease. *Journal of Autoimmunity*. 1999; 12: 51-56
- Beales PE, Elliott RB, Flohe S, Hill JP, Kolb H, Pozzilli P, Wang GS, Wasmuth H, Scott FW: A multi-center, blinded international trial of the effect of A(1) and A(2) beta-casein variants on diabetes incidence in two rodent models of spontaneous Type I diabetes. *Diabetologia*. 2002; 45: 1240-1246

- Bingley PJ, Bonifacio E, Mueller P: Diabetes antibody standardization program: first assay proficiency evaluation. *Diabetes*. 2003; 52: 1128-1136
- Bonifacio E, Ziegler AG, Hummel M, Dittler J, Lampasona V, Pastore MR, Bosi E: Gluten: is it also a determinant of islet autoimmunity? *Diabetes Metab Rev*. 1998; 24: 259-260
- Bonifacio E, Bingley P, Shattock M et al: Quantification of islet cell antibodies and prediction of insulin-dependent diabetes. *Lancet*. 1990; 335: 147-149
- Borch-Johnsen K, Joner G, Mandrup-Poulsen T, et al: Relation between breast-feeding and incidence rates of insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*. 1984; II: 1083-1086
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D: Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*. 1974; 2 (7892): 1279-1283
- Bu DF, Erlander MG, Hitz BC et al: Two human glutamate decarboxylase 65-kDa GAD and 67-kDa GAD are encoded by a single gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992; 89: 2115-2119
- Burk K, Bosch S, Muller CA; Melms A, Zuhlke C, Stern M, Besenthal I, Skalej M, Ruck P, Ferber S, Klockgether T, Dichgans J: Sporadic cerebellar ataxia associated with gluten sensitivity. *Brain* 2001 (124): 1013-1019
- Cavallo MG, Fada D, Monetini L, Barone F, Pozzili P. Cell-mediated immune response to  $\beta$ -casein in recent-onset insulin-dependent diabetes: implications for disease pathogenesis. *Lancet*. 1996; 348: 926-928
- Challacombe DN, Mecrow IK, Elliott K, Clarke FJ, Wheeler EE: Changing infant feeding practices and declining incidences of coeliac disease in West Somerset. *Arch Dis Child*. 1997; 77: 206-209
- Coleman DL, Kuzava JE, Leiter EH: Effect of diet on incidence of diabetes in nonobese diabetic mice. *Diabetes*. 1990; 39: 432-436
- Collin P, Mäki M, Keyrilainen O: Selective IgA deficiency and coeliac disease. *Scand Jour Gastroenterology*. 1992, 27: 367-371
- Collin P, Salmi J, Hällström O, Reunala T, Pasternack A: Autoimmune thyroid disorder and coeliac disease. *Eur J Endocrinol*. 1994; 130; 137-140
- Cooke WT, Holmes GKT: Neurological and psychiatric complications. In: *Coeliac disease*. London: Churchill Livingstone, 1984, 197-213

- Corazza G, Andreani M, Venturo N, Bernardi M, Tosti A, Gasbarrini G: Celiac disease and alopecia areata: report of a new association. *Gastroenterology*. 1995; 109: 1333-1337
- Couper JJ, Steele C, Beresford S, et al: Lack of association between duration of breast-feeding or introduction of cow`s milk and development of islet autoimmunity. *Diabetes*. 1999: 2145-2149
- Cronin CC, Shanahan F. Insulin-dependent diabetes mellitus and coeliac disease. *Lancet*. 1997; 349: 1096-1097
- Dahlquist G, Patterson C, Soltesz G: Perinatal risk factor for childhood type 1 diabetes in Europe. *Diabetes Care*. 1999; 22: 1698-1072
- Dahlquist G, Blom L, Tuvemo T, Nyström L, Sandström A, Wall S: The Swedish childhood diabetes study – Results from a nine year case register and a one year case-referent study indicating that type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus is associated with both type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and autoimmune disorders. *Diabetologia*. 1989; 32: 2-6
- Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, et al: A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature*. 1994; 371: 130-136
- Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nature Med*. 1997; 55: 797-801
- Dotta F, Eisenbarth GS: Type I diabetes mellitus: a predictable autoimmune disease with interindividual variation in the rate of beta cell destruction. *Clin Immunopathol*. 1989; 50: 85-95
- Eisenbarth GS: Primer immunology/autoimmunity. In: *Type 1 Diabetes: Molecular, Cellular and Clinical Immunology*. Eisenbarth GS, Lafferty KJ, Eds. New York, Oxford University Press, 1996, 3-18
- Eisenbarth GS: Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med*. 1986; 314; 1360-1368
- Elliott RB, Bibby NK, McGregor M, Pilcher CC: Childhood vaccines and the aetiology of type 1 diabetes. *Horm Res*. 1998; 50: 117
- Empfehlungen für die Ernährung von Säuglingen. Herausgegeben vom aid infodienst und der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) e.V.; Text: Forschungsinstitut für Kinderernährung Dortmund, PD Dr. M. Kersting, Dr. Alexy, 2003

- Funda DP, Kaas A, Troels B, Tlaskalová-Hogenová H, Buschard K: Gluten-free Diet Prevents Diabetes in NOD Mice. *Diabetes Metab Res Rev.* 1999; 15: 323-327
- Gerstein IIC: Cow`s milk exposure and type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1994; 17: 13-19
- Graves PM, Barriga KJ, Norris JM et al: Lack of association between early childhood immunization and beta-cell autoimmunity. *Diabetes Care.* 1999; 22: 1694-1697
- Greco L, Corazza G, Babron MC, Clot F, Fulchignoni-Lataud MC, Percopo S, Zavattari P, Bouguerra F, Dib C, Tosi R, Troncone R, Ventura A: Genome search in celiac disease. *Am J Hum Genet.* 1998; 62: 669-675
- Greco L, Mayer M, Grimaldi M, Follo D, De Ritis G, Auricchio S: The effect of early feeding on the onset of symptoms in celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1985; 4: 52-55
- Hadjivassiliou M, Grunewald R, Davies-Jones G et al: Gluten ataxia. In: S Lohiniemi, P Collin, M Maki (eds) *Changing Features of Coeliac Disease.* The Finnish Coeliac Society, Tampere, 1998, p 121
- Hadjivassiliou M, Gibson A, Davies-Jones GAB, Lobo A, Stephenson TJ, Milford-Ward A: Does cryptic gluten sensitivity play a part in neurological illness? *Lancet.* 1996; 347 (10): 369-371
- Harms H: Die Zöliakie. In: *Zöliakie/Sprue, DZG medizin, Deutsche Zöliakie-Gesellschaft e.V. (Hrsg.), 3. Auflage, Stuttgart 1998*
- Haskins K, Wegmann D: Diabetogenic T-cell clons. *Diabetes.* 1996; 45: 1299-1305
- Hernell O, Ivarsson A, Persson LA: Coeliac disease: effect of early feeding on the incidence of the disease. *Early Hum Dev.* 2001; 65 Suppl: 153-160
- Hoffmann E, Lebensmittelrecht. In: *DZG (Deutsche Zöliakie Gesellschaft) 2/2004: 16-18*
- Hoorfar J, Buschard K, Dagnes-Hansen P: Prophylactic nutritional modification of the incidence of diabetes in autoimmune non-obese diabetic (NOD) mice. *Br J Nutr.* 1993; 69: 597-607
- Houlston RS, Tomlinson IPM, Ford D, Seal S, Marossy AM, Ferguson A, Holmes GKT, Hoskie KB, Howdle PD, Jewell DP, Godkin A, Kerr GD, Kumar P, Logan RFA, Lova AHG, Johnston S, Marsh MN, Mitton S, O Donoghue D,

- Robert A, Walker-Smith JA, Stratton MF: Linkage analysis of candidate regions for celiac disease genes. *Hum Mol Genet.* 1997; 6: 1335-1339
- Hummel M, Bonifacio E, Naserke HE, Ziegler AG: Elimination of dietary gluten does not reduce titers of type 1 diabetes-associated autoantibodies in high risk subjects. *Diabetes Care.* 2002; 25: 1111-1116
  - Hummel M, Füchtenbusch M, Schenker M, Ziegler AG: No major association of breast-feeding, vaccinations, and childhood viral diseases with early islet autoimmunity in the German BABYDIAB Study. *Diabetes Care.* 2000a; 23: 969-974
  - Hummel M, Bonifacio E, Stern M, Dittler J, Schimmel A, Ziegler AG: Development of celiac disease associated antibodies in offspring of parents with type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2000b; 43: 1005-1011
  - Hyöty H, Hiltunen M, Reunanen A et al: The childhood in Finland study group: Decline of mumps antibodies in type 1 (insulin-dependent) diabetic children and a plateau in the rising incidence of type 1 diabetes after introduction of the mumps-measles-rubella vaccine in Finland. *Diabetologia* 1993; 36: 1303-1308
  - Ivarsson A, Persson LA, Nystrom L, et al. Epidemic of coliac disease in Swedish children. *Acta Paediatr.* 2000; 89: 165-171
  - Karjalainen J, Martin JM, Knip M, et al: Evidence of bovine albumin peptide as a candidate trigger of Type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 1992; 327: 302-307
  - Katz JD, Benoist D, Mathis D: T helper cell subsets in insulin dependent diabetes. *Science.* 1995; 268: 1185
  - Kimpimaki T, Erkkola M, Korhonen S, et al: Short-term exclusive breastfeeding predisposes young children with increased genetic risk of Type I diabetes to progressive beta-cell autoimmunity. *Diabetologia.* 2001a; 44: 63-69
  - Kimpimaki T, Kupila A, Hamalainen AM, Kukko M, Kulmala P, Savola K, Simell T, Keskinen P, Ilonen J, Simell O, Knip M: The first sign of {beta}- cell autoimmunity appear in infancy in genetically susceptible children for the general population: the Finnish type 1 diabetes prevention study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001b; 86 (10): 4782-4788
  - Knip M, Akerblom HK: Environmental factors in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 1999; 107: 93-100
  - Kolb H: Ätiopathogenese, inkl. Genetik. In Berger (Hrsg.): *Diabetes mellitus*, 2. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München/Jena, 2000

- Kolb H: Benign versus destructive insulinitis. *Diabetes Metab Rev.* 1997; 13: 139
- Leslie RD, Elliott RB: Early environmental events as a cause of IDDM. Evidence and implications. *Diabetes.* 1994; 43: 843-850
- Lundin KE, Scott H, Hansen T, et al: Gliadin-specific, HLA-DQ(alpha 1\*0501, beta 1\*0201) restricted T cells isolated from the small intestinal mucosa of celiac disease patients. *J Exp Med.* 1993; 178: 187-196
- MacFarlane AJ, Burghardt KM, Kelly J, Simell T, Simell O, Altossar I, Scott FW: A type 1 diabetes-related protein from wheat (*Triticum aestivum*). CDNA clone fo a wheat storage globulin, Glb1, linked to islet damage. *J Biol Chem.* 2003; 278: 54-63
- Maki M, Holm K, Ascher H, Greco L: Factors effecting clinical presentation of coeliac disease: role of type and amount of gluten-containing cereals in the diet. *Dyn Nutr Res.* 1992; 2: 76-82
- Marsh M: Gluten, major histocompatibility complex, and the small intestine: A molecular and immunobiologic approach to the spectrum of gluten-sensitivity ("celiac sprue"). *Gastroenterology.* 1992; 102: 330-354
- Muntoni S, Font MT, Stoduto S, Marietti G, Bizzarr C, Crino A, Ciampalini P, Multari G, Suppa MA, Matteoli MC, Lucentini L, Sebastiani LM, Visalli N, Pozzilli P, Boscherini B, Muntoni S: Incidence of insulin-dependent diabetes mellitus among Sardinian-heritage children born in Lazio region, Italy. *Lancet* 1997; 349: 160-162
- Naserke HE, Bonifacio E, Ziegler AG: Prevalence, characteristics and diabetes risk associated with transient maternally acquired islet antibodies and persistent islet antibodies in offspring of parents with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 4826-4833
- Naserke HE, Bonifacio E, Ziegler AG. Immunglobulin G insulin autoantibodies in BABYDIAB offspring appear postnatally: sensitive early detection using a protein A/G-based radiobinding assay. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84: 1239-1243
- Naserke HE, Ziegler AG, Lampasona V, Bonifacio E : Early development and spreading of autoantibodies to epitopes of IA-2 and their association with progression to type 1 diabetes. *J Immunology.* 1998; 161: 6963-6969

- Norris J, Barriga K, Rewers M: Does cereal protein in the infant diet play a role in the etiology of  $\beta$ -cell autoimmunity? The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetes*. 2002; 51: A234 (Abstract)
- Norris JM, Beaty B, Klingensmith G et al: Lack of association between early exposure to cow's milk protein and beta-cell autoimmunity. *Diabetes Autoimmunity Study in the Young*. *JAMA*. 1996a; 276: 606-614
- Norris JM, Scott FW: A meta-analysis of infant diet and insulin-dependent diabetes mellitus: do biases play a role? *Epidemiology*. 1996b; 7: 87-92
- Not T, Tommasini A, Tonini G, Buratti E, Pocecco M, Tortul G, Valussi M, Cricchiutti G, Berti I, Trevisiol C, Azzoni E, Neri E, Torre G, Martellosi S, Soban M, Lenhardt A, Cattin L, Ventura A: Undiagnosed coeliac disease and risk of autoimmune disorders in subjects with Type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001; 44: 151-155
- Page SR, Lloyd CA, Hill PG, Peacock I, Jolmes GK: The prevalence of coeliac disease in adult diabetes mellitus. *Q J M*. 1994; 87: 631-637
- Paronen J, Klemetti P, Kantele J et al: Glutamate decarboxylase-reactive peripheral blood lymphocytes from patients with Type I diabetes express gut-specific homing receptor  $\alpha 4\beta 7$ -integrin. *Diabetes*. 1997; 46: 583-588
- Pastore M, Bazzigaluppi E, Belloni C, Toussoun K, Arcovio C, Bonifacio E, Bosi E: 6-months of gluten-free diet improves insulin secretion in subjects at high risk for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2002, 51 Suppl 2: A288
- Pender SL, Tickle SP, Docherty AJ, Howie D, Wathen NC, McDonald TT: A major role of matrix metalloproteinases in T cell injury in the gut. *J Immunol*. 1997; 158:1582-1590
- Pocecco M, Ventura A: Coeliac disease and insulin-dependent diabetes mellitus: a causal association? *Acta Paediatr*. 1995; 84: 1432-1433
- Polizzi A, Finocchiaro M, Parano E, Paone P, Musumeci S: Recurrent peripheral neuropathy in a girl with celiac disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2000; 68: 104-105
- Pozzili P on behalf of the IMDIAB Group: BCG vaccine in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1997; 349: 1520-1521
- Reddy S, Karanam M, Robinson E: Prevention of cyclophosphamide-included accelerated diabetes in the NOD mouse by nicotinamid or a soy protein-based infant formula. *Int J Exp Diabetes Res*. 2001; 1: 299-313

- Rewers M, Bugawan TL, Norris JM, Blair A, Beaty B, Hoffmann M, McDuffie RS Jr, Hammann RF, Klingensmith G, Eisenbarth GS, Erlich HA: Newborn screening for HLA markers associated with IDDM: diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). *Diabetologia*. 1996; 39: 807-812
- Roll U, Christie MR, Fuchtenbusch M, Payton MA, Hawkes CJ, Ziegler AG: Perinatal autoimmunity in offspring of diabetic parents. The German Multicenter BABY-DIAB study: detection of humeral immune responses to islet antigens in early childhood. *Diabetes*. 1996; 45: 967-973
- Roll U, Schröder A, Keller E, Albert E, Vordemann J, Ziegler AG: Keine Korrelation von GAD-Antikörpern mit HLA-Risikoallelen bei neuentdeckten Typ-1-Diabetikern und ICA + und/oder IAA+ Verwandten ersten Grades von Typ-1-Diabetikern. *Diabetes und Stoffwechsel*. 1994; 3: 146
- Schenker M, Hummel M, Ferber K, Walter M, Keller E, Albert ED, Janka HU, Kastendiek C, Sorger M, Louwen F, Ziegler AG: Early expression and high prevalence of islet autoantibodies for DR3/4 heterozygous and DR4/4 homozygous offspring of parents with type 1 diabetes: The German BABYDIAB study. *Diabetologia* 1999; 42: 671-677
- Schmid S, Koczwara K, Schwinghammer S, Lampasona V, Ziegler AG, Bonifacio E: Delayed exposure to wheat and barley proteins reduces diabetes incidence in non-obese diabetic mice. *Clinical Immunology*. 2004; 11: 108-118
- Schmid S, Ziegler AG: BABYDIÄT. Ein Pilotprojekt zur Primärprävention des Diabetes mellitus Typ 1A und ein Projekt zur Identifizierung pathogenetischer Faktoren bei der Entstehung der Inselautoimmunität. *Diabetes und Stoffwechsel*. 11/2002; 85-86
- Schmölerich J: Dünndarmerkrankungen, Sprue. In: Thiemes Innerer Medizin (TIM), Thieme Verlag, Stuttgart 1999
- Schuppan D: Current Concepts of Celiac Disease Pathogenesis. *Gastroenterology*. 2000; 119: 234-242
- Scott FW: Cow`s milk and insulin dependent diabetes mellitus: Is there a relationship? *Amer J Clin Nutr*. 1990; 51: 489-491
- Sollid LM, Thorsby E: HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology*. 1993; 105: 910-922
- Strobel S, Mowat AM: Immune responses to dietary antigens: oral tolerance. *Immunol Today*. 1998; 19: 173-181

- Thomas HE, Kay TW: Beta cell destruction in the development of autoimmune diabetes in the non-obese diabetic (NOD) mouse. *Diabetes Metab Res Rev.* 2000; 16 (4): 251-261
- Tiwari JL, Terasaki PI: Juvenile diabetes mellitus (insulin-dependent). In: Tiwari JL, Terasaki PI, et al: HLA and disease associations. Springer Verlag, New York, 1985, 185-210
- Todd JA, Bell JI, McDevitt HO: HLA-DQ beta gene contributes to susceptibility and resistance to insulin dependent diabetes mellitus. *Nature.* 1987; 329: 599-604
- Tuomilehto J, Lounamaa R, Tuomilehto-Wolf E, Reunanen A, Virtala E, Kaprio EA, Akerblom HK and the Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group: Epidemiology of childhood diabetes mellitus in Finland – background of a nationwide study of Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1992; 35: 70-76
- Usai P, Usai Satta P, Lai M, Corda MG, Piras E, Calcara C, Boy MF, Morelli A, Balestieri A, Bassotti G: Autonomic dysfunction and upper digestive functional disorders in untreated adult coeliac disease. *Eur J Clin Invest.* 1997; 27 (12): 1009-1015
- Vaarala O, Knip M, Paronen J, et al: Cow`s milk formula feeding induces primary immunization to insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. *Diabetes.* 1999a; 48: 1389-1394
- Vaarala O: Gut and induction of immune tolerance in Type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 1999b; 15: 353-361
- Vaarala O, Klemetti P, Savilahti E, Reijonen H, Ilonen J, Akerblom HK: Cellular immune response to cow`s milk  $\beta$ -lactoglobulin in patients with newly diagnosed IDDM. *Diabetes.* 1996; 45: 178-182
- Ventura A, Neri E, Ughi C, Leopaldi A, Città A, Not T: Gluten-dependent diabetes-related and thyroid-related autoantibodies in patients with celiac disease. *J Pediatr.* 2000; 137: 263-265
- Ventura A, Magazzu G, Greco L, and the SIGEP study group: Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorder in patients with celiac disease. *Gastroenterology.* 1999; 117: 297-303

- van de Wal, Kooy YM, van Veelen PA, et al. Small intestinal T cells of celiac disease patients recognize a natural pepsin fragment of gliadin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 10050-10054
- Walsh CH, Cooper BT, Wright AD, Malins JM, Cooke WT: Diabetes mellitus and coeliac disease: a clinical study. *Q J M*. 1978; 47: 89-100
- Weile B, Cavell B, Nivenius K, Krasilnikoff PA: Striking differences in the incidence of childhood celiac disease between Denmark and Sweden: a plausible explanation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1995; 21: 64-68
- Wicker LS, Miller BJ, Mullen Y: Transfer of autoimmune diabetes mellitus with splenocytes from nonobese diabetic (NOD) mice. *Diabetes*. 1986; 35 (8): 855-860
- Williams AJK, Bingley PJ, Bonifacio E, Paler JP, Gale EAM. A novel micro-assay for insulin-autoantibodies. *Journal of Autoimmunity*. 1997; 10: 473-478
- Wortsman J, Kumar V: Idiopathic hypoparathyroidism co-existing with celiac disease: immunologic studies. *Am J Med Sci*. 1994; 307: 402-427
- Yu L, Robles DT, Abiru N, Kaur P, Rewers M, Kelemen K, Eisenbarth GS: Early expression of antiinsulin autoantibodies in humans and the NOD mouse: evidence for an early determination of subsequent diabetes. *Proc Natl Acad Sci*. 2000; 97 (4): 1701-1706
- Ziegler AG, Hummel M, Scherbaum WA: Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese des Typ-1-Diabetes. In: *Diabetologie in Klinik und Praxis*; Mehnert H, Standl E, Usadel K-H (Hrsg.), Thieme Verlag, 4. Auflage, 2000
- Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E: Autoantibody Appearance and Risk for the Development of Childhood Diabetes in Offspring of Parents with Type 1 Diabetes: the 2-year analysis of the German BABY-DIAB Study. *Diabetes*. 1999a; 48: 460-468
- Ziegler AG, Scherbaum WA: Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese des Typ 1-Diabetes. In Mehnert H, Standl E, Usadel K.-H (Hrsg.): *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Thieme Verlag, Stuttgart, 1999b

## **8. Danksagungen**

Während der Auswertungs- und Schreibzeit meiner Dr. Arbeit erfuhr ich von zahlreichen Personen Unterstützung. Stellvertretend für viele möchte ich mich bei einigen ganz besonders bedanken.

Herrn PD Dr. Michael Hummel möchte ich herzlich für die Bereitstellung des Themas danken. Als mein Doktorvater ermöglichte er mir die Durchführung dieser Dissertation und unterstützte mich mit wertvollen Hinweisen und Anregungen während der Arbeitsphase und der Fertigstellung der Arbeit.

Frau Prof. Dr. Anette-G. Ziegler danke ich im Besonderen, da sie mir die Möglichkeit gab, die Arbeit in ihrer klinisch-experimentellen Abteilung am Institut für Diabetesforschung in München durchzuführen. Ihre fachlichen Anregungen, ihre konstruktive Kritik und die persönliche Unterstützung haben maßgeblich zum Gelingen der Arbeit beigetragen. Danken möchte ich ihr auch für die angenehme Zusammenarbeit, die mir die Veröffentlichung meiner Forschungsergebnisse möglich machte.

Ein besonders großes Dankeschön gilt auch Frau Dr. oec. troph. Sandra Hummel die mich als Mitbetreuerin unermüdlich fachlich und menschlich bei der Abfassung dieser Dissertation unterstützt hat. Ihre Erfahrungen und ihr Wissen gab sie stets bereitwillig in Form von Tipps und Ratschlägen an mich weiter und erleichterte mir dadurch sehr den Einstieg in das wissenschaftliche Arbeiten. Ihre Dr. Arbeit, in der sie sich unter anderem mit dem Einfluss von Nahrungsgluten auf Diabetes-assoziierte Autoimmunität im Tiermodell beschäftigte, war eine wichtige Grundlage für die vorliegende Arbeit.

Herrn Prof. Dr. Eberhard Standl gilt mein Dank für die Möglichkeit, die wissenschaftliche Arbeit am Institut für Diabetesforschung durchzuführen.

Allen Mitarbeitern unserer Arbeitsgruppe und des Instituts für Diabetesforschung in München danke ich für die nette und angenehme Arbeitsatmosphäre. Besonders hervorheben möchte ich an dieser Stelle die Unterstützung, die ich von Herrn Dr. Markus Walter, Frau Annette Knopff und Frau Dr. Kerstin Koczvara erfahren habe.

Sie standen mir tatkräftig zur Seite, wenn es kurzzeitig durch Rückrufe der befragten Eltern zu telefonischen Engpässen kam.

Nicht zuletzt möchte ich den Kindern der BABYDIAB-Studie und deren Eltern für Ihr Engagement danken. Ohne ihre Teilnahme an der Studie wäre die vorliegende Arbeit nicht möglich gewesen.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken. Sie haben mir meinen beruflichen Werdegang ermöglicht und brachten mir viel Geduld und Unterstützung in allen Höhen und Tiefen entgegen. Damit leisteten sie den wesentlichen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit.

## **9. Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name	Doris Christiane Huber
Geburtsdatum/-ort	29. Dezember 1976, München
Anschrift	Fichtenstraße 7 82110 Germering
Familienstand	ledig

### **Schulbildung**

1983-1987	Grundschule in Germering
1987-1996	Carl-Spitzweg-Gymnasium, Germering Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

### **Berufsausbildung**

09/1996-07/1998	Ausbildung zur Bankkauffrau Bayerische Vereinsbank AG, Filiale Germering
07/1998-10/1998	Tätigkeit als Bankkauffrau bei der HypoVereinsbank AG, Immobilien-Service-Center, München

### **Studium**

11/1998-05/2005	Humanmedizin, Ludwig-Maximilians-Universität, München
08/2000	ärztliche Vorprüfung
08/2001	erster Teil der ärztlichen Prüfung
03/2004	zweiter Teil der ärztlichen Prüfung
05/2005	dritter Teil der ärztlichen Prüfung

### **Praktisches Jahr**

1. Tertial	Innere Medizin am Krankenhaus München Schwabing
2. Tertial	Anästhesie am Klinikum Starnberg
3. Tertial	Chirurgie am Klinikum Starnberg

### **Berufstätigkeit**

seit 10/05	Assistenzärztin im Kreiskrankenhaus Erding
------------	--