

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Dietrich Reinhardt

Bedeutung frühkindlicher Ernährungsfaktoren bei Kindern mit einem  
erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko

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

vorgelegt von  
Christiane Winkler

aus  
Jena  
2008

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Berthold Koletzko

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Thomas Gilg  
Priv. Doz. Dr. Christine Meisinger

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der mündlichen  
Prüfung: 31.07.2008

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	IV
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Einführung und Fragestellung.....	1
1.2 Allgemeine Grundlagen .....	3
<b>2 Bedeutung der Trinkwasserqualität für die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Hintergrund und Problemstellung.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Methode.....</b>	<b>21</b>
2.2.1 Untersuchungspopulation: BABYDIAB-Studie .....	21
2.2.2 Zusammensetzung der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation .....	22
2.2.3 Daten der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr.....	24
2.2.4 Trinkwasserdaten der Versorgungsunternehmen .....	24
2.2.5 Definition Nord-/Süddeutschland .....	25
2.2.6 Statistik .....	26
<b>2.3 Ergebnisse .....</b>	<b>27</b>
2.3.1 Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität.....	27
2.3.2 Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes .....	34
2.3.3 Risiko für die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit des Wohnortes (Norddeutschland vs. Süddeutschland) innerhalb der BABYDIAB-Population.....	40
2.3.4 Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr differenziert nach Nord- und Süddeutschland innerhalb der Nested Fall-Kontroll- Studienpopulation .....	41

2.3.5	Nitrat-, Nitrit-, Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentrationen des Trinkwassers in Beziehung zum pH-Wert .....	46
<b>2.4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>48</b>
2.4.1	Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität und die Progression von Insel- autoimmunität zum Typ 1 Diabetes .....	48
2.4.2	Risiko für die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes und die Trinkwasserqualität in Abhängigkeit des Wohnortes (Norddeutschland vs. Süddeutschland) innerhalb der BABYDIAB-Population bzw. der Nested Fall-Kontroll-Studie .....	53
2.4.3	Ausblick .....	55
<b>3</b>	<b>Einfluss des mütterlichen Typ 1 Diabetes auf die Fett- säurezusammensetzung der Erythrozytenmembran .....</b>	<b>56</b>
<b>3.1</b>	<b>Hintergrund und Problemstellung</b> .....	<b>56</b>
<b>3.2</b>	<b>Methode</b> .....	<b>59</b>
3.2.1	Untersuchungspopulation: BABYDIÄT-Studie .....	59
3.2.2	Kollektiv aus der BABYDIÄT-Studie für die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran .....	61
3.2.3	Probensammlung und –verarbeitung.....	63
3.2.4	Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran der BABYDIÄT Kinder .....	64
3.2.5	Berechnung des Fettsäuregehaltes .....	70
3.2.6	Reproduzierbarkeit der durchgeführten Analysen.....	70
3.2.7	Dokumentation der Ernährung.....	70
3.2.8	Definitionen.....	72
3.2.9	Statistik .....	73
<b>3.3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>75</b>
3.3.1	Reproduzierbarkeit der durchgeführten Analysen.....	75
3.3.2	Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran bei Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 3 Monaten .....	76

3.3.3	Einfluss weiterer Faktoren auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran von Kindern im Alter von 3 Monaten in der multivariaten Analyse.....	79
3.3.4	Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran zwischen voll gestillten Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 3 Monaten .....	82
3.3.5	Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 12 Monaten.....	85
3.3.6	Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 24 Monaten.....	87
3.3.7	Korrelation zwischen der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran und der durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung.....	89
<b>3.4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>92</b>
3.4.1	Einfluss des mütterlichen Typ 1 Diabetes auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran .....	92
3.4.2	Einfluss weiterer Faktoren auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran .....	94
3.4.3	Korrelation zwischen der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran und der durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung .....	99
3.4.4	Ausblick .....	101
<b>4</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>103</b>
<b>5</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>107</b>
	<b>Publikationsliste .....</b>	<b>124</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>125</b>
	<b>Lebenslauf.....</b>	<b>126</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Al	Aluminium
BHT	Butylhydroxytoluol
CD4 und CD8	cluster of differentiation 4, cluster of differentiation 8
Cox	Cyclooxygenase
DHA	Docosahexaensäure
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (ethylendiamintetraacetat)
EPA	Eicosapentaensäure
Fe	Eisen
GADA	Antikörper gegen die Glutamatdecarboxylase
h	Stunde
HCl	Salzsäure
HLA	Human Leukocyte Antigen (Histokompatibilitätskomplex)
IA	Inselautoimmunität
IAA	Insulinautoantikörper
IA2A	Antikörper gegen Proten-Tyrosinphosphatase IA-2
ICA	Inselzell-Antikörper
IDDM	insulin dependent diabetes mellitus
Ig	Immunglobulin
IFN	Interferon
IL	Interleukine
Insel-AK-	Inselautoantikörper negativ
Insel-AK+	Inselautoantikörper positiv
l	Liter
LC-PUFA	long-chain polyunsaturated fatty acid (langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
LT	Leukotriene
min	Minuten
ml	Milliliter
Mn	Mangan
MUFA	monounsaturated fatty acids (einfach ungesättigte Fettsäuren)
NaCl	Natrimchlorid

NFκB	Nuclear factor kappa B (Transkriptionsfaktor)
NOD	nonobese diabetic
n.s.	nicht signifikant
PC	Phosphatidylcholin
PE	Phosphatidylethanolamin
PG	Prostaglandine
pHc-Wert	pH-Wert nach Calciumcarbonatsättigung
PUFA	polyunsaturated fatty acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren)
rpm	rotations per minute
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler des Mittels
SFA	saturated fatty acids (gesättigte Fettsäuren)
T1D	Typ 1 Diabetes
Tab.	Tabelle
Th1 Zellen	T Helfer 1 Zellen
Th2 Zellen	T Helfer 2 Zellen
TNF	Tumornekrosefaktor
TVO	Trinkwasserverordnung
TX	Tromboxane
vs.	versus
WHO	World Health Organisation
wt%	weight %

# 1 Einleitung

## 1.1 Einführung und Fragestellung

Der Typ 1 Diabetes – eine Autoimmunerkrankung – ist eine der häufigsten Erkrankungen im Kindesalter. Sie erfolgt aus einer selektiven Zerstörung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen im Pankreas durch das körpereigene Immunsystem mit der Folge eines absoluten Insulinmangels. Die Ursachen des Typ 1 Diabetes sind noch nicht geklärt, aber es ist wahrscheinlich, dass eine genetische Prädisposition und Umweltfaktoren ursächlich am Autoimmunprozess beteiligt sind (Atkinson 2001, Gianani 2005, Peng 2006, Virtanen 2003). In der folgenden Arbeit werden Ernährungsfaktoren und deren Einfluss auf die Krankheitsentstehung und Krankheitsprogression untersucht. Vorbefunde aus einer Reihe von prospektiven Studien im Kindesalter haben ergeben, dass Kinder, die vor der Pubertät Typ 1 Diabetes entwickeln, bereits vor dem 3. Lebensjahr Inselautoantikörper aufweisen (Ziegler 1999, Kimpimäki 2002). Das bedeutete, dass eine Störung des Immunsystems, wenn sie in der Tat durch Umweltfaktoren getriggert wird, durch sehr früh einwirkende Umweltfaktoren ausgelöst werden muss. Als Umweltfaktoren werden derzeit Ernährung (z. B. kurze Stilldauer, zeitiges Einführen von Kuhmilch oder Gluten), Infektionen und psychosoziale Faktoren diskutiert (Knip 1999, 2005, Virtanen 2003). Die Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. med. Anette-G. Ziegler beschäftigt sich seit vielen Jahren mit der Untersuchung von Ernährungsfaktoren, die in der Ernährung eines Kindes im ersten Lebensjahr eine Rolle spielen. So konnte an Hand der BABYDIAB Studie gezeigt werden, dass die zu frühe Gabe von Beikost und vor allem von Gluten mit einem erhöhten Diabetesrisiko assoziiert ist (Ziegler 2003). Bezüglich des Stillens konnte gezeigt werden, dass Mütter mit Diabetes ihre Kinder sehr viel seltener stillen als nicht diabetische Mütter, dass aber Nicht-Stillen oder kurzes Stillen nicht mit einem erhöhten Diabetesrisiko einhergeht (Ziegler 2003, Hummel S 2007). Im Gegenteil haben sogar Kinder von Müttern mit Diabetes ein signifikant geringeres Risiko, Inselautoantikörper zu entwickeln oder an Typ 1 Diabetes zu erkranken als Kinder von Vätern mit Typ 1 Diabetes (Warram 1984, Bleich 1993, El-Hashimy 1995, Lorenzen 1998).

In der vorliegenden Arbeit wurden nun weitere frühkindliche Ernährungsfaktoren analysiert: erstens die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr und zweitens die



Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran als Biomarker für die Fettsäureaufnahme mit der Nahrung.

Schon frühere Untersuchungen konnten einen Zusammenhang zwischen Bestandteilen im Trinkwasser (Nitrat/Nitrit, pH-Wert) und dem Typ 1 Diabetes feststellen. Allerdings wurde bei früheren Untersuchungen die Trinkwasserqualität zum Zeitpunkt der Diabetesdiagnose oder sogar nach Manifestation durchgeführt, so dass ein Zusammenhang zwischen der Trinkwasserqualität und der Entstehung von Inselautoimmunität nicht analysiert werden konnte (Stene 2000, Parslow 1997).

Hier wurde nun erstmals anhand der prospektiven BABYDIAB Studie die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auf die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes untersucht.

Auch eine mögliche Prävention des Typ 1 Diabetes durch die immunmodulierenden Eigenschaften der omega-3 Fettsäuren Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure wurde anhand von retrospektiven Erhebungen publiziert (Stene 2000, 2003). Außerdem zeigte sich in einer aktuellen Analyse der prospektiven DAISY Studie aus Colorado, dass die Aufnahme von omega-3 Fettsäuren sowie der Gehalt an omega-3 Fettsäuren in der Erythrozytenmembran mit einem verminderten Risiko für Inselautoimmunität verbunden ist (Norris 2007).

In der vorliegenden Arbeit soll vor allem der Frage nachgegangen werden, ob sich die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit Typ 1 Diabetes und Kindern von Müttern ohne Typ 1 Diabetes in der frühen Kindheit unterscheidet. Diese Information soll indirekt darüber Auskunft geben, ob die Ernährung von Kindern diabetischer Mütter anders ist als die Ernährung von Kindern diabetischer Väter und somit Unterschiede im Diabetesrisiko erklären könnte. Hierzu wurde die Fettsäurezufuhr über die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran der an der BABYDIÄT Studie teilnehmenden Kinder untersucht.

## **1.2 Allgemeine Grundlagen**

### **Typ 1 Diabetes – allgemein**

Der Typ 1 Diabetes ist eine chronische Stoffwechselerkrankung und zählt zu den Autoimmunerkrankungen. Im Verlauf des Autoimmunprozesses kommt es zur einer selektiven Zerstörung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen im Pankreas, so dass aufgrund eines absoluten Insulinmangels eine exogene Insulinzufuhr nötig ist, um die Glucosehomöostase aufrechtzuerhalten. Die Entstehung des Typ 1 Diabetes beruht z.T. auf einer genetischen Prädisposition, die aber nicht allein zum Ausbruch der Erkrankung führt. Es werden vor allem Umweltfaktoren als Auslöser für den Autoimmunprozess diskutiert. (Atkinson 2001, Gianani 2005, Peng 2006, Virtanen 2003). Die Manifestation des Typ 1 Diabetes tritt häufig sehr plötzlich auf und ist gekennzeichnet durch akute Beschwerden wie Polyurie, Polydipsie, rascher Gewichtsverlust, Hunger, Übelkeit, Erbrechen oder allgemeines Krankheitsgefühl. Aufgrund des absoluten Insulinmangels kommt es im Blut zur Hyperglykämie und somit auch zur Ausscheidung von Glucose im Urin sowie durch den gestörten Glucosestoffwechsel zur Bildung von Ketonkörpern, was unbehandelt ohne Insulintherapie ins ketoazidotische Koma führen und tödlich enden kann. Betroffene müssen sich ihr Leben lang mehrmals täglich Insulin spritzen. Aufgrund der heutigen modernen Therapieformen ist es den Patienten möglich, weitgehend ein normales Leben zu führen. Trotzdem kann es zu Spätfolgen, wie kardiovaskulären Erkrankungen, Retinopathien und Nephropathien kommen (Mehnert 2003), so dass die Erforschung der Ursachen bzw. geeigneter Präventionsmaßnahmen von essentieller Bedeutung ist.

### **Epidemiologie des Typ 1 Diabetes**

Die Prävalenz des Typ 1 Diabetes in Deutschland beträgt 0,3%. In Deutschland liegt dabei die Inzidenz bei den 0-14 Jährigen zwischen ca. 13-16/100 000 Kinder/Jahr (Ziegler 2003, Galler 2005, Rosenbauer 2002).

Weltweit lassen sich geographische Unterschiede bezüglich der Inzidenzrate feststellen. Sie variiert von sehr niedrig wie in Asien und Südamerika (0,1/100 000/Jahr) bis sehr hoch wie in Sardinien, Finnland, Schweden, Großbritannien, Kanada und

Neuseeland ( $\geq 20/100\ 000/\text{Jahr}$ ) (Karvonen 1993, 2000). Auch innerhalb Europas schwankt die Inzidenzrate erheblich: So ist der Typ 1 Diabetes viel häufiger in den nordeuropäischen Ländern als in den südeuropäischen Ländern zu finden, mit einer Ausnahme: Sardinien ( $37,8/100\ 000/\text{Jahr}$ ). Die Inzidenzraten in Schweden und Finnland liegen bei 30 bzw.  $40,9/100\ 000\ \text{Kinder}/\text{Jahr}$  und somit beträchtlich höher als in Rumänien:  $5,3/100\ 000/\text{Jahr}$ . Diese weltweite Variation der Inzidenzrate reflektiert zu einem Teil die unterschiedlichen genetischen Hintergründe der verschiedenen Populationen und zum anderen möglicherweise Umweltfaktoren, die die Inselautoimmunität auslösen (The DIAMOND Project Group 2006, Karvonen 1993, 2000).

Weiterhin zeigt sich, dass die weltweite Diabeteshäufigkeit in den letzten Jahren deutlich ansteigt. So beträgt der Anstieg der Inzidenzrate in Europa für den Zeitraum von 1989-1994 3,4% pro Jahr. Dabei zeigt sich auch eine Tendenz zu immer mehr jüngeren Patienten, denn in der Altersgruppe von 0 bis 4 Jahren ist ein Anstieg der Inzidenzrate von 6,3% zu verzeichnen. Es wird allgemein davon ausgegangen, dass die Inzidenzrate im Jahr 2010 40% höher sein wird als 1998. Als Gründe für die steigenden Inzidenzraten werden sowohl die vermehrte Vererbung der Diabetes-Risikogene als auch der Einfluss von Umweltfaktoren angenommen (Onkamo 1999, Rosenbauer 2000, EURODIAB ACE Study Group 2000).

## **Pathogenese des Typ 1 Diabetes**

### ***Bedeutung von genetischen Faktoren in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes***

Das Vorhandensein einer entsprechenden genetischen Prädisposition ist Voraussetzung für die Entwicklung eines Typ 1 Diabetes. So erkrankten 5% der Kinder von Müttern oder Vätern mit Typ 1 Diabetes selbst an einem Typ 1 Diabetes.

Zurzeit sind ca. 20 verschiedene Gen-Loci bekannt, die mit dem Typ 1 Diabetes assoziiert sind. Dabei hat das IDDM1 Gen, das innerhalb der HLA (human leukocyte antigen) Klasse II Region auf dem Chromosom 6p21 zu finden ist, den größten Einfluss mit etwa 50% auf die Entwicklung eines Typ 1 Diabetes. Diese HLA-Moleküle sind im Immunsystem für die Antigenpräsentation gegenüber den CD4+ T-Zellen verantwortlich (Atkinson 2001, Davies 1994, Gianani 2005). Neben den Genotypen HLA-DR\*03/04 (DQB1\*57non-Asp) und HLA-DR\*04/04 (DQB1\*57non-Asp), die mit

dem höchsten Risiko verbunden sind, gibt es auch protektive HLA-Haplotypen wie z.B. HLA-DR2 (DQB1\*0602) (Atkinson 2001, Hummel 2002). So besitzen Kinder von Typ 1 diabetischen Eltern mit einem HLA-Risikogenotyp ein kumulatives Risiko von 20% innerhalb der ersten 5 Jahre Inselautoimmunität zu entwickeln und somit ist das Risiko bei diesen Kindern 10mal höher als bei Kindern ohne diese Genotypen (2,7%) (Schenker 1999). Bei Kindern aus der gesunden Allgemeinbevölkerung mit diesen Risikogenotypen liegt das Risiko für einen Typ 1 Diabetes bei ca. 3-4%.

Weitere Typ 1 Diabetes determinierende Genorte sind: der IDDM2 Locus (Insulin-genpolymorphismus) auf Chromosom 11p15 (Davies 1994, Pugliese 2002), der IDDM4 Locus auf Chromosom 11q13, IDDM5 Locus auf Chromosom 6q25, IDDM6 Locus auf Chromosom 18q21 und IDDM8 Locus auf Chromosom 6q27 sowie der IDDM12 Locus auf Chromosom 2q33 (zytotoxisches T-Lymphozyten assoziiertes Antigen CTLA-4 Gen) und die Interleukin-4 und Interleukin-13 codierenden Gene auf Chromosom 5q31 (Davies 1994, Steck 2005, Badenhoop/Usadel 2003).

### ***Bedeutung der Immunologie in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes***

Aus Untersuchungen an Pankreaten von Typ 1 Diabetikern geht hervor, dass es im Verlauf des Autoimmunprozesses zu einer Zerstörung und Entzündung der  $\beta$ -Zellen durch Infiltration von mononukleären Zellen in die pankreatischen Inseln (Insulitis) kommt (Gepts 1965, Foulis 1986). Nimmt die Inselzellmasse um mehr als 80% ab, wird der Typ 1 Diabetes klinisch manifest. Die Infiltrate setzen sich aus CD4+ T-Zellen, CD8+ T-Zellen, B-Lymphozyten und Makrophagen zusammen (Atkinson 2001, Bach 1994). Dabei sind hauptsächlich die CD4+ T-Zellen an der initialen Zerstörung der  $\beta$ -Zellen beteiligt (Haskins 1990). Aufgrund der unterschiedlichen Zytokinausschüttung werden die CD4+ T-Zellen in Th1-Zellen und Th2-Zellen eingeteilt (Paul 1994). Untersuchungen an NOD Mäusen zeigten, dass die Th1 Zellen eine maßgebliche Rolle in der Progression des Typ 1 Diabetes spielen. Auf der anderen Seite wird den Th2 Zellen eine protektive Wirkung zugeschrieben (Tian 1997, Liblau 1995, Katz 1995).

Bereits Jahre vor Ausbruch der Krankheit lassen sich in der Phase des Prädiabetes Inselautoantikörper im Blut nachweisen: Insulinautoantikörper (IAA), Glutamatdecarboxylaseautoantikörper (GADA), Tyrosinphosphataseautoantikörper (IA2A) und

zytoplasmatischer Inselzellautoantikörper (ICA). Sie sind wichtige Immunmarker für die Diagnostik und Prädiktion des Typ 1 Diabetes. Diese 4 Inselautoantikörper können mittels sensitiven, international standardisierten Methoden im venösen und kapillaren Blut bestimmt werden. Ein Charakteristikum für die Risikoabschätzung eines Typ 1 Diabetes ist zum einen die Anzahl der Inselautoantikörper und zum andern das Alter bei Entstehung von Inselautoantikörpern (Hummel 2004, Ziegler 1999). So zeigen die Ergebnisse der prospektiven BABYDIAB Studie, dass bei Kindern, die in der frühen Kindheit einen Typ 1 Diabetes entwickeln, bereits in den ersten beiden Lebensjahren Inselautoantikörper nachgewiesen werden können. Dabei stellt der Autoantikörper gegen Insulin (IAA) meist den ersten Antikörper dar. Nur bei älteren Kindern ist GADA der erste nachweisbare Antikörper (Ziegler 1999). Kinder, die später an einem Typ 1 Diabetes erkranken, haben zudem hoch affine IAA (Achenbach 2004). Für die Progression zum Typ 1 Diabetes ist nicht nur das Auftreten eines Inselautoantikörpers entscheidend, sondern die Ausweitung der Immunantwort (spreading) auf weitere Antigene wie GADA und IA2A ist wichtig für das Fortschreiten einer Insulinitis zum Typ 1 Diabetes (Naserke 1998). So haben Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern ein Risiko von 40% in den nächsten 5 Jahren einen Typ 1 Diabetes zu entwickeln (Hummel 2004). In der Regel entwickeln Kinder persistierende Inselautoantikörper mit zum Teil schwankenden Antikörpertitern, aber es gibt auch Kinder mit transienten Inselautoantikörpern bzw. mit singulären Inselautoantikörpern. Das Vorhandensein nur eines Inselautoantikörpers bzw. eines transienten Inselautoantikörpers stellt in den meisten Fällen eine harmlose nichtprogressive Inselautoimmunität dar (Colman 2000, Hummel 2004). Weiterhin konnte die BABYDIAB Studie zeigen, dass die Progression zum Typ 1 Diabetes invers mit dem Alter, bei dem multiple Inselautoantikörper auftreten, korreliert. Die Progression verläuft signifikant schneller bei Kindern, die innerhalb des ersten Lebensjahres multiple Inselautoantikörper entwickeln im Vergleich zu Kindern, bei denen erst später im Leben multiple Inselautoantikörper im Blut detektierbar sind (Hummel 2004, Achenbach 2005).

## ***Bedeutung von Umweltfaktoren in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes***

Es gibt einige Hinweise für eine Beteiligung von Umweltfaktoren an der Entstehung des Typ 1 Diabetes. So zeigten Studien bei monozygoten Zwillingen, dass nur in 23-55% der Fälle beide Zwillinge an einem Typ 1 Diabetes erkranken (Barnett 1981, Kapiro 1992, Kyvik 1995, Olmos 1988). Weiterhin berichteten Migrationstudien über eine Angleichung der Inzidenzrate bei Nachkommen in der neuen Umgebung. Aufgrund dieser Beobachtungen und der weltweit steigenden Inzidenz des Typ 1 Diabetes wird den Umweltfaktoren eine immer größere Relevanz zugesprochen (Knip 2005, Onkamo 1999, Peng 2006). Seit mehreren Jahrzehnten wird sowohl die destruktive als auch die protektive Bedeutung von Umweltfaktoren in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes in verschiedenen Tier- und Humanstudien erforscht. Trotz einer Vielzahl von durchgeführten Studien herrscht immer noch Unklarheit über den auslösenden „Trigger“ und über den genauen Zeitpunkt dessen Einwirkung. In Tab. 1 sind die Umweltfaktoren aufgeführt, die in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes zurzeit diskutiert werden.

**Tab.1:** Mögliche Umweltfaktoren in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes

<b>Ernährungsfaktoren</b>		
Stilldauer/Einführung von Kuhmilch Gluten Vitamin D Trinkwasser Zink Nitrat/Nitrit/N-Nitroso-Verbindungen n-3 Fettsäuren		
<b>Virale Infektionen</b>	<b>Impfungen</b>	<b>Hygiene</b>
Enteroviren Röteln Retroviren Rotaviren Cytomegaloviren	Mumps, Masern, Röteln Hepatitis B Varizellen Polio Haemophilus Influenza Diphtherie Tetanus Pertussis	
<b>Pränatale/Perinatale/Postnatale Faktoren</b>		
Alter der Mutter Komplizierter Geburtsmodus Ernährung der Mutter in der Schwangerschaft Geburtsgewicht Gewichtszunahme		
<b>Psychosoziale Faktoren</b>		
Sozialstatus der Eltern Stress		

## Ernährungsfaktoren

### ***Stilldauer und Einführung von Kuhmilch***

Zahlreiche Fall-Kontroll-Studien wurden durchgeführt, um zu klären, ob eine kürzere Stilldauer bzw. zeitiges Einführen von Kuhmilch für den Typ 1 Diabetes prädisponieren. Aufgrund von fehlenden eindeutigen Beweisen wird diese Hypothese immer noch kontrovers diskutiert (Gerstein 1994, Harrison 1999, Melonie 1997). Natürlich bedingen sich Stilldauer und Zeitpunkt der Kuhmilcheinführung gegenseitig, denn je kürzer die Stilldauer, desto früher werden Kuhmilchprodukte in die Ernährung eines Säuglings eingeführt (Harrison 1999, Füchtenbusch 1995).

In einer Metaanalyse von 1994 wurde das Typ 1 Diabetes Risiko aus 13 Fall-Kontroll-Studien berechnet. Hier zeigte sich eine 1,37fache Erhöhung des Typ 1 Diabetes Risikos, wenn die Kinder kürzer als 3 Monate gestillt wurden bzw. eine 1,57fache

Erhöhung des Typ 1 Diabetes Risikos bei Einführung von Kuhmilch vor dem 4. Lebensmonat (Gerstein 1994). Dennoch gibt es auch Untersuchungen aus England, Dänemark und Sardinien, die keinen Zusammenhang zwischen Stilldauer bzw. Einführung von Kuhmilch und dem Risiko für Typ 1 Diabetes finden konnten (Bodington 1994, Kyvik 1991, Meloni 1997).

Ein weiterer Faktor der berücksichtigt werden muss, ist das genetische Risiko. So berichteten Kostraba et al. und Perez-Bravo et al., dass das relative Risiko signifikant höher war (11,3 und 13,1), wenn Kinder mit einem Hochrisikogenotyp (HLA) weniger als 3 Monate exklusiv gestillt wurden bzw. eine Exposition gegenüber Kuhmilch vor dem 3. Lebensmonat erhalten hatten (Kostraba 1993, Perez-Bravo 1996).

Dem gegenüber stehen vor allem 4 große prospektive Studien aus den USA, Australien, Deutschland und Finnland. So konnten Norris et al. in einer retrospektiven Analyse im Rahmen der DAISY Studie keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Entwicklung von Inselautoimmunität bis zu einem Alter von 7 Jahren und der frühkindlichen Ernährung in den ersten 6 Lebensmonaten finden (Norris 1996). Dieses Ergebnis konnte von Couper et al. mit der australischen Baby DIAB Studie bestätigt werden. Hier wurden 317 Kinder diabetischer Eltern von Geburt an bis zum 29. Lebensmonat nachverfolgt. Die Eltern wurden gebeten in Form von Tagebüchern und Fragebögen die Ernährung ihres Kindes festzuhalten. Es wurde das exklusive Stillen, Gesamtstilldauer, Einführung von Formulanahrungen oder Einführung anderer Nahrungsmittel analysiert. Auch hier konnte kein Zusammenhang zwischen der Inselautoimmunität und der frühkindlichen Ernährung entdeckt werden (Couper 1999). Gleiche Resultate wurden auch in der deutschen BABYDIAB Studie erzielt, die ebenfalls Kinder von erstgradigen Verwandten von Geburt an untersucht. Exklusives Stillen und Gesamtstilldauer unterschieden sich nicht zwischen den Inselautoantikörper positiven und Inselautoantikörper negativen Kindern. Auch nach einer separaten Analyse von HLA-Hochrisiko Kindern konnte kein Zusammenhang festgestellt werden (Hummel 2000, Ziegler 2003). Ebenso konnte in der finnischen DIPP Studie, in der 3565 Kinder mit einem erhöhtem genetischen Typ 1 Diabetes Risiko von Geburt an prospektiv nachverfolgt werden, keine Assoziation zwischen der Gesamtstilldauer bzw. exklusiven Stilldauer und der Entwicklung von Inselautoimmunität beobachtet werden (Virtanen 2006).

Folgende Kuhmilchproteine werden bezüglich der Kuhmilch-Hypothese diskutiert: Casein, Bovin-Serum-Albumin (BSA) und  $\beta$ -Lactoglobulin. Als ein möglicher Mecha-



nismus wird die immunologische Kreuzreaktion (Mimikry) zwischen Kuhmilchproteinen und Inselantigenen vermutet (Harrison 1999, Schrezenmeir 2000, Wasmuth 2000). Ferner vermuteten Vaarla et al., dass eine frühkindliche Ernährung mit Formulanahrung auf Kuhmilchbasis in eine Kreuzreaktion mit bovinem Insulin resultiert. Kinder, die mit Formulanahrungen auf Kuhmilchbasis gefüttert wurden, hatten signifikant höhere IgE-Antikörpertiter gegen bovines Insulin als gestillte Kinder im Alter von 3 Monaten. Die IgE-Antikörpertiter gegen bovines Insulin verringerten sich in beiden Gruppen im Alter von 12 und 18 Monaten. Aber bei 11 Kindern, die mindestens 2 Inselautoantikörper entwickelt hatten, erhöhten sich die IgE-Antikörpertiter während des Beobachtungszeitraumes (Vaarla 1999). Weiterhin berichteten Paronen et al., dass die zellulären und humoralen Reaktionen gegen bovines Insulin bei Kindern mit 3 Monaten höher waren, wenn diese Formulanahrung auf Kuhmilchbasis erhalten hatten als bei exklusiv gestillten Kindern (Paronen 2000). Diese Beobachtungen könnten von Bedeutung sein, da der Insulinautoantikörper bei Kleinkindern oft der erste Autoantikörper ist (Ziegler 1999). Auf der anderen Seite darf nicht vergessen werden, dass Muttermilch eine ausgezeichnete Quelle für die Versorgung des Neugeborenen mit wichtigen immunmodulierenden Faktoren für die Reifung und Entwicklung des Darms und des darmassoziierten Immunsystems, aber auch für die Bereitstellung von Antikörpern, Leukozyten, Lysozym und Lactoferrin für einen passiven Immunschutz ist, so dass ein Fehlen von Muttermilch mit einer veränderten Entwicklung des darmassoziierten Immunsystems unter Verdacht steht (Harrison 1999). Da die meisten publizierten Ergebnisse aus retrospektiven Studien stammen, ist es besonders wichtig Daten aus prospektiven Studien zu sammeln.

Zurzeit wird im Rahmen der TRIGR Studie (Trial to Reduce Diabetes in the Genetically at Risk), eine prospektive Interventionsstudie, der Einfluss von Kuhmilchprotein auf die Entstehung von Inselautoimmunität evaluiert. Kinder aus der Interventionsgruppe erhalten nach dem Abstillen eine spezielle Caseinhydrolysatnahrung, während die Kontrollgruppe eine normale Formulanahrung auf Kuhmilchbasis erhält. In der Pilotstudie mit 242 Kindern war die kumulative Inzidenz für Inselautoimmunität in der Interventionsgruppe signifikant niedriger (Akerblom 2005).

## **Gluten**

Als ein weiterer Nahrungsfaktor, der in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes eine Rolle spielt, wird Gluten diskutiert. Gluten ist das Klebereiweiß des Getreides und ist externer Trigger für die Zöliakie, eine Malabsorptionsstörung im Kindes- und Erwachsenenalter. Zöliakie und Typ 1 Diabetes kommen oft zusammen vor, so haben 5% der Typ 1 Diabetiker auch zusätzlich eine Zöliakie (Cronin 1997, Not 2001, Hummel 2000b). Das gehäuft gemeinsame Auftreten von beiden Erkrankungen wird auf den gemeinsamen Risiko-HLA-Haplotyp DR3 (DQ02) zurückgeführt (Barker 2006). In 2 Studien an NOD Mäusen konnte durch eine glutenfreie Diät die Typ 1 Diabetesinzidenz signifikant reduziert bzw. die Diabetesmanifestation signifikant heraus gezögert werden (Funda 1999, Schmid 2004).

Ventura et al. untersuchten die Korrelation zwischen der Dauer der Glutenexposition von Zöliakie-Patienten und der Prävalenz von anderen Autoimmunerkrankungen. Die Prävalenz für den Typ 1 Diabetes war signifikant höher, wenn die Zöliakie nach dem 10. Lebensjahr diagnostiziert wurde im Vergleich zu Patienten mit einem Alter bei Diagnose von < 2 Jahren (6,6% vs. 0,8%) (Ventura 1999). Somit kann durch eine frühzeitige Erkennung einer Zöliakie und eine daraus resultierende glutenfreie Ernährung eventuell die Entstehung von anderen Autoimmunerkrankungen wie Typ 1 Diabetes verhindert werden.

Auch scheint der Zeitpunkt der Einführung von glutenhaltiger bzw. getreidehaltiger Beikost für die Entwicklung von Inselautoimmunität wichtig zu sein. So fanden Norris et al. bei 1183 Kindern der DAISY Studie mit einem genetischen Risiko oder einem erstgradigen Verwandten ein signifikant erhöhtes Risiko für Inselautoimmunität, wenn getreidehaltige Beikost (glutenhaltiges und glutenfreies Getreide wie Reis) vor dem 4. Lebensmonat oder nach dem 6. Lebensmonat gegeben wurde (HR: 4,29; 5,36) (Norris 2003). In der deutschen BABYDIAB Studie hatten Kinder, die vor dem 3. Lebensmonat glutenhaltige Nahrung erhalten hatten ein signifikant erhöhtes Inselautoantikörper Risiko als Kinder, die in den ersten 3 Lebensmonaten gestillt wurden (HR: 4,0). Aber im Gegensatz zur DAISY Studie konnte kein erhöhtes Risiko für Inselautoimmunität bei Einführung glutenhaltiger Nahrung nach dem 6. Lebensmonat festgestellt werden (Ziegler 2003).

Gegenwärtig wird in der BABYDIÄT Studie der Einfluss einer verzögerten Glutenexposition auf die Entstehung von Inselautoimmunität bzw. die Entwicklung eines Typ 1 Diabetes untersucht.

## ***Vitamin D***

Im Gegensatz zum Kuhmilchprotein und dem Gluten werden der aktiven Form des Vitamin D dem 1,25 Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol, Vitamin D3) protektive Eigenschaften im Hinblick auf die Entstehung eines Typ 1 Diabetes zugesprochen. Die biologische Aktivität des Calcitriol wird erst nach Bindung an den Vitamin-D-Rezeptor wirksam, der auf fast allen Zellen des Immunsystems zu finden ist. Das Calcitriol moduliert das Immunsystem auf verschiedenen Wegen: zum einen durch Reduzierung der Antigenpräsentation und zum anderen durch Inhibierung von IL-2 und IFN- $\gamma$  Produktion der Th1 Zellen mit einer gleichzeitigen Zytokinerhöhung der Th2 Zellen. Dadurch kommt es zur Unterdrückung der Th1 Zellproliferation (Mathieu 2005, Saggese 1989). Dieser Wirkmechanismus könnte den protektiven Effekt einer Vitamin D Supplementierung erklären.

Bei NOD Mäusen führte eine Behandlung mit 1,25 Dihydroxycholecalciferol zu einer verminderten Diabetes-Inzidenz (Mathieu 1994). Ebenso zeigt die EURODIAB Studie und eine große finnische Studie, dass eine Vitamin D Supplementation im ersten Lebensjahr mit einem reduzierten Typ 1 Diabetes Risiko einhergeht (The EURODIAB Substudy 2 Study Group 1999, Hyppönen 2001).

## ***Trinkwasser***

Die Bedeutung der Trinkwasserqualität für die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes wurde in verschiedenen epidemiologischen Studien erforscht, die zu widersprüchlichen Ergebnissen führten. In der frühkindlichen Ernährung hat das Trinkwasser bei der Zubereitung von Tee und Formelnahrungen auf Pulverbasis eine besondere Relevanz. Im Fokus der Untersuchung stehen dabei vor allem ein niedriger pH-Wert, hohe Nitrat- und Nitritkonzentrationen und Zink.

## ***Nitrat/Nitrit***

Nitrat ist eine aus Stickstoff und Sauerstoff bestehende Verbindung, die natürlicherweise im Boden und Grundwasser vorkommt. Der Stickstoff aus dem Nitrat dient den Pflanzen zum Eiweißaufbau, darum wird in der Landwirtschaft Nitrat als Dünger eingesetzt. So kann die Nitratbelastung von Boden und Grundwasser in ländlichen Gebieten besonders hoch sein (McKnight 1999). Laut EU-Trinkwasserverordnung 2001 darf der Grenzwert für Nitrat von 50 mg/l nicht überschritten werden. Die Hauptquellen für die Aufnahme von Nitrat in der menschlichen Ernährung sind

Gemüse (Spinat, Feldsalat, Kohlrabi, Rote Beete) gefolgt von Trinkwasser und gepökeltem Fleisch (Kasper 2000, Biesalski 1999). Nitrat und Nitrit werden in der Lebensmittelindustrie aufgrund ihrer antimikrobiellen Eigenschaften und ihrer Fähigkeit, gepökeltem Fleisch eine rote Farbe und einen besonderen Geschmack zu verleihen, eingesetzt (Lucke 1999). Nitrat kann im Gastrointestinaltrakt durch Bakterien zu Nitrit reduziert werden, welches wiederum in Anwesenheit von Aminen zu kanzerogenen Nitrosaminen (N-Nitroso-Verbindung) umgewandelt werden kann (Ohshima 1981, Spiegelhalder 1976). Diese endogene Bildung wird bei sauren pH-Werten begünstigt. Nitrosamine können aber auch mit der Nahrung aufgenommen werden über gepökeltes Fleisch, Fisch und Käse (Scanlan 1983). Dabei erhöht sich der Gehalt an Nitrosaminen, wenn man gepökeltes Fleisch/Wurst gemeinsam mit Käsesorten, die reich an sekundären Aminen sind, erhitzt (Kasper 2000, Biesalski 1999). Etwa 5 % der aufgenommenen Nitratmengen werden im Körper zu Nitrit reduziert (Choi 1985). Die antioxidativ wirksamen Vitamine C und E können vor der Nitrosaminbildung schützen, in dem sie im Körper Nitrat zu Stickstoffmonoxid reduzieren, welches nicht mit Aminen zu Nitrosaminen umgewandelt werden kann (Chow 2002, Mirvish 1986, Tannenbaum 1991).

Die akzeptable tägliche Aufnahmemenge (ADI-Wert) von Nitrat und Nitrit für Erwachsene und Kinder liegt bei 0 - 3,7 mg/kg Körpergewicht bzw. 0 - 0,7 mg/kg Körpergewicht (FAO/WHO 2002). Diese Werte gelten allerdings nicht für Säuglinge unter 3 Monaten. Nitrit kann Hämoglobin zum Methämoglobin oxidieren, welches bei Säuglingen aufgrund des noch nicht voll entwickelten Methämoglobinreduktase Enzymsystems zu einer Zyanose führt, die wiederum im schlimmsten Fall tödlich enden kann (McKnight 1999).

Neben den kanzerogenen Eigenschaften konnte den N-Nitroso-Verbindungen wie Streptozotocin und N-Nitrosomethylurea in diversen Tierexperimenten auch diabetogene Eigenschaften nachgewiesen werden (Wilander 1975, Rakieten 1963).

Aber auch epidemiologische Studien weisen auf einen Zusammenhang zwischen der Nitrataufnahme mit der Nahrung bzw. Trinkwasser und einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko hin. So konnte in England eine erhöhte Typ 1 Diabetes Inzidenz mit einer Nitratkonzentration von > 14,85 mg/l im Trinkwasser assoziiert werden (Parslow 1997). Ebenso demonstrierten Kostraba et al. eine positive Korrelation zwischen dem Nitrat im Trinkwasser und der Typ 1 Diabetes Inzidenz (Kostraba 1992). Im

Gegensatz dazu konnten Untersuchungen aus Sardinien und den Niederlanden keinen Beweis hierfür erbringen (Casu 2000, van Maanen 2000).

Da wie oben erwähnt Nitrat und Nitrit hauptsächlich über die Nahrung aufgenommen wird, erforschten Virtanen et al. den Zusammenhang zwischen der Nitrat- und Nitritaufnahme mit der Nahrung bzw. mit dem Trinkwasser und dem Typ 1 Diabetes Risiko. Es zeigte sich, dass die diabetischen Kinder und ihre Mütter signifikant mehr Nitrit mit der Nahrung verzehrt hatten als die Kontrollgruppe, hingegen die Nitrataufnahme keinen Einfluss hatte. Keine Unterschiede wurde bezüglich der aufgenommenen Nitrat- und Nitritmenge über das Trinkwasser zwischen den diabetischen Kindern und der Kontrollgruppe gefunden (Virtanen 1993). Ebenso konnte in der Swedish Childhood Diabetes Study eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen dem häufigen Verzehr von Lebensmittel reich an Nitrosaminen, Nitrat und Nitrit und dem Typ 1 Diabetes festgestellt werden (Dahlquist 1990). In einer australischen Studie konnte dieses Ergebnis nicht bestätigt werden. Hier hatten Kinder kein erhöhtes Typ 1 Diabetes Risiko, wenn sie Nahrung reich an Nitrosaminen zu sich genommen hatten (Verge 1994).

### *Zink*

Zink spielt eine wichtige Rolle im Insulinmetabolismus (Insulinsynthese und –sekretion) und ist wichtiger Bestandteil von vielen Enzymen wie die Superoxid-Dismutase, ein Enzym, das vor reaktiven Sauerstoffspezies schützt. Aufgrund dieser Eigenschaften wird auch die Rolle des Zinks als ein möglicher protektiver Faktor in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes erforscht (Tayler 2005, Chausmer 1998, Dudson 1998). Im Mausmodell konnte eine Zinksupplementierung des Trinkwassers einen Streptozotocin (eine N-Nitroso-Verbindung) induzierten Diabetes durch Hochregulierung von Metallothionein gehemmt werden. Metallothionein ist eine Proteingruppe, die die DNA vor Radikalen schützt (Ohly 2000). Als ein weiterer Mechanismus für die Wirkung von Zink wird die Inhibierung von NFκB, ein proinflammatorischer Transkriptionsfaktor, diskutiert (Tayler 2005, Ho 2001).

In einer schwedischen Fall-Kontroll-Studie war eine hohe Zinkkonzentration im Grundwasser mit einem signifikant erniedrigten Typ 1 Diabetes Risiko assoziiert (Haglund 1996). Ein gleiches Ergebnis konnte auch eine Studie aus England erzielen. Die Typ 1 Diabetes Inzidenz war signifikant reduziert, wenn die Zinkkonzentration im Trinkwasser zwischen 22,27-27,00 µg/l betrug (Zhao 2001). Im Unterschied

dazu konnte eine finnische Studie keinen Zusammenhang zwischen dem Zinkgehalt im Grundwasser und der Typ 1 Diabetes Inzidenz aufzeigen (Moltchanova 2004). Weiterhin berichten viele Untersuchungen von einer signifikant verminderten intrazellulären Zinkkonzentration sowie von einer verminderten Zinkkonzentration im Serum und Plasma bei Typ 1 Diabetikern als in den Kontrollgruppen (Hägglöf 1983, Isbir 1994, Raz 1989, Walter 1991).

### ***n-3 Fettsäuren***

Die Bedeutung der n-3 Fettsäuren für das Immunsystem erfolgt überwiegend über die Beeinflussung der Eicosanoidsynthese, Zytokinproduktion und der Lymphozytenfunktion (Calder 2004, Yaqoob 2004).

Eicosanoide werden in den meisten Fällen über die Arachidonsäure gebildet, die wiederum durch die Phospholipase A aus den Membranphospholipiden freigesetzt wird. Anschließend wird die Arachidonsäure über Cyclooxygenasen und Lipoxygenasen in proinflammatorische Prostaglandine, Thromboxane der 2er Serie und Leukotriene der 4er Serie umgewandelt (Calder 2004, Yaqoob 2004).

Nur die Eicosapentaensäure konkurriert mit der Arachidonsäure als Substrat für die Cyclooxygenase und Lipoxygenase und inhibiert die Oxidation der Arachidonsäure. Wird anstelle der Arachidonsäure die Eicosapentaensäure freigesetzt, werden Prostaglandine und Thromboxane der 3er Serie und Leukotriene der 5er Serie synthetisiert, die entweder weniger physiologisch aktiv sind bzw. antiinflammatorisch, antithrombotisch, antichemotaktisch und antivasokonstriktiv wirken. Durch Verzehr von Fischöl nimmt der Anteil der n-3 Fettsäuren in den Membranen zu, was zu einer verminderten Synthese von proinflammatorischen Eicosanoiden wie Prostaglandin E<sub>2</sub>, Thromboxan A<sub>2</sub> und Leukotrien B<sub>4</sub> aus der Arachidonsäure resultiert (Calder 2004, Yaqoob 2004).

Andererseits beeinflussen die n-3 Fettsäuren über Eicosanoide die Zytokinproduktion. So konnte in Tier- und Humanstudien durch eine tägliche Supplementierung von n-3 Fettsäuren eine verminderte Synthese von IL-1, IL-2, IL-6 und TNF- $\alpha$  festgestellt werden, die wiederum proinflammatorische Eigenschaften besitzen (Calder 2004, Yaqoob 2004).

Weiterhin wurde den n-3 Fettsäuren eine Verminderung der Lymphozytenproliferation, der Natürlichen Killerzell-Aktivität, der T-Zell und Makrophagen vermittelten

Zytotoxizität, sowie eine verringerte Expression von HLA Klasse II Molekülen auf aktiven Monozyten und eine Erhöhung der Suppressor-T-Zellen Aktivität nachgewiesen (Calder 2004, Yaqoob 2004, Molvig 1991, Meydani 1993, Hughes 2000).

Diese immunmodulierenden Effekte der n-3 Fettsäuren werden im Hinblick auf eine mögliche Prävention des Typ 1 Diabetes als sehr günstig bewertet. Es wird vermutet, dass Zytokine wie IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  die pankreatischen  $\beta$ -Zellen schädigen. Zawalich und Diaz zeigten, dass IL-1, TNF- $\alpha$  die Insulinsekretion beeinträchtigen können und zytotoxisch auf die Inselzellen wirken (Zwalisch 1986). Ebenfalls demonstrierten Campell et al. die Zytotoxizität von IFN- $\gamma$  und TNF- $\alpha$  auf Inselzellen von Mäusen (Campell 1988). Eine Inhibierung der Produktion von IL-1, IL-2 und TNF- $\alpha$  durch n-3 Fettsäuren in humanen Lymphozyten in vitro und in vivo konnten Endres et al. und Kumar und Das erreichen (Endres 1989, Kumar 1994). Durch eine Supplementierung von 2g/Tag Eicosapentaensäure und 1g/Tag Docosahexaensäure über 7 Wochen konnte eine signifikante Hemmung der Proliferation von mononukleären Zellen und eine reduzierte IL-1 $\beta$  Immunoreaktivität in mononukleären Zellen und Monozyten in gesunden Probanden und bei neudiagnostizierten Typ 1 Diabetikern nachgewiesen werden. Dennoch kam es dabei nicht zu einer verringerten Sekretion von IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , PGE2 und LTB4 (Molvig 1991).

Die genetische Prädisposition des Typ 1 Diabetes ist, wie eingangs beschrieben, innerhalb der HLA Klasse II Genotypen lokalisiert (Atkinson 2001). Supplementierung von gesunden Probanden mit 3g Fischöl pro Tag über 3 Wochen führte zu einem verminderten Level der HLA Klasse II (HLA-DP, -DQ und -DR) Expression auf der Oberfläche von peripheren Monozyten (Hughes 1996). Dagegen berichteten ebenfalls Hughes et al., dass die Eicosapentaensäure die Expression von HLA-DR von unstimulierten humanen Monozyten in vitro hemmt, während die Docosahexaensäure diese Expression erhöht (Hughes 1996b). In einer neueren Untersuchung von 2000 kam es zu einer Reduzierung der antigenpräsentierenden Funktion von aktiven Monozyten wenn Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure in einem Verhältnis von 3:2 gegeben wurde (Hughes 2000).

Ferner wird angenommen, dass die n-3 Fettsäuren eine wichtige Rolle im Typ 1 Diabetes bedeutsamen Th1/Th2 Gleichgewicht spielen. Im Tiermodell führten Behandlungen mit Fischöl zu einer Suppression der IL-2 induzierten Th1 Aktivität und zu einer direkten Hemmung der Th1 Entwicklung bzw. zu einer indirekten Down Regulation der Th1 Proliferation durch Erhöhung der Th2 Funktion, denen wiederum eine

protektive Wirkung bezüglich des Typ 1 Diabetes zugeschrieben wird (Arrington 2001, Zhang 2005).

Eine Untersuchung an Typ 1 Diabetikern und Patienten mit Insulinautoantikörpern berichtet über eine erhöhte Expression der Prostaglandin-Synthase 2 (COX2) in Makrophagen, was wiederum in einer veränderten proinflammatorischen Eicosanoid-synthese resultieren könnte (Litherland 1999). Im NOD-Maus Modell konnte durch eine Reduktion der Expression der Prostaglandin-Synthase 2 in Makrophagen eine signifikant verminderte Diabetesinzidenz erzielt werden (Litherland 1999).

Bei einer weiteren Studie mit Mäusen konnte das Ausmaß der Insulinitis durch eine Fischölsupplementierung verringert werden (Linn 1989). In einer Untersuchung an Wistar Ratten schützten mehrfach ungesättigte n-3 und n-6 Fettsäuren signifikant vor einem mit Alloxan induzierten Diabetes (chemisch-induziert), wenn diese Tiere zuvor mit Fischöl behandelt wurden (Kirshna 2001). Alloxan ist über die Bildung von OH<sup>·</sup>-Radikalen toxisch für die  $\beta$ -Zellen. In dieser Studie wirkten die n-3 und n-6 Fettsäuren protektiv durch Erhöhung des antioxidativen Status der Ratten (Kirshna 2001).

Stene et al. fanden im Jahre 2000 in einer norwegischen Fall-Kontroll-Studie eine starke negative Korrelation zwischen Lebertran-Einnahme in der Schwangerschaft und dem Typ 1 Diabetes Risiko für die Nachkommen mit einem OR von 0.3. In einer Nachfolgerstudie von 2003 konnte dieses Ergebnis nicht bestätigt werden, aber die Lebertran-Einnahme im ersten Lebensjahr war mit einem signifikanten verminderten Risiko für Typ 1 Diabetes verbunden. Unklar in beiden Studien ist, ob die Wirkung der n-3 Fettsäuren allein oder in Kombination mit dem im Lebertran ebenfalls reichlich vorkommenden Vitamin D zurückzuführen ist. Denn auch dem Vitamin D wird eine im Bezug auf die Entstehung des Typ 1 Diabetes schützende Funktion zugeschrieben (Stene 2000, 2003). Erst kürzlich zeigten Norris et al. in einer Analyse der prospektiven DAISY Studie, dass die Aufnahme an omega-3 Fettsäuren invers mit dem Risiko für Inselautoimmunität korreliert (HR: 0,45; 95% Konfidenzintervall: 0,21-0,96; p=0,04). Diese Assoziation wurde verstärkt, wenn nur Kinder mit multiplen Autoantikörpern oder mit Typ 1 Diabetes in die Analyse einbezogen wurden (HR:23; 95% Konfidenzintervall: 0,09-0,58; p=0,002). Außerdem waren in der einer zweiten Analyse im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie (n=244) erhöhte Konzentrationen an omega-3 Fettsäuren in der Erythrozytenmembran mit einem verminderten Risiko für Inselautoimmunität assoziiert (HR: 0,63; 95% Konfidenzintervall: 0,41-0,96; p=0,03) (Norris 2007).



Weitere Untersuchungen sind nötig, um die genauen Wirkmechanismen der n-3 Fettsäuren im Immunsystem zu verstehen, die für eine Verhinderung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes von Vorteil sind. Somit könnte auch eine ausreichende Versorgung mit n-3 Fettsäuren prä- und postnatal von entscheidender Bedeutung sein.

## **2 Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes**

### **2.1 Hintergrund und Problemstellung**

Ein Zusammenhang zwischen der Trinkwasserqualität und der Entstehung von Typ 1 Diabetes wurde wiederholt propagiert. So wird von einem erhöhten Risiko für Typ 1 Diabetes in Gegenden mit niedrigem pH-Wert, niedrigen Zinkkonzentrationen oder höheren Nitratkonzentrationen ausgegangen. Die z. T. widersprüchlichen Ergebnisse der bisher durchgeführten Studien stammen meist aus retrospektiven Untersuchungen oder aus Untersuchungen, die zum Zeitpunkt der Manifestation des Typ 1 Diabetes durchgeführt wurden. Da aber der Prozess der Inselautoimmunität bereits viele Jahre vor der klinischen Manifestation des Typ 1 Diabetes beginnt und bereits in den ersten Lebensjahren auftreten kann, ist davon auszugehen, dass die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes durch Faktoren beeinflusst wird, die in den ersten Lebensjahren einwirken. Deshalb war das Ziel dieser Arbeit, erstmalig die Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung und Progression von Inselautoimmunität anhand der prospektiven BABYDIAB Studie zu analysieren. Dabei wurde ein Nested Fall-Kontroll-Studienansatz gewählt. Folgende Fragestellungen sollten dabei genauer untersucht werden:

1. Welche Bedeutung hat die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität bzw. unterscheidet sich die Trinkwasserqualität des getrunkenen Wassers zwischen Kindern, die innerhalb der ersten Lebensjahre Inselautoantikörper entwickelt haben und Kindern, die keine Inselautoantikörper entwickelt haben?
2. Welchen Einfluss hat die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes?
3. Welchen Einfluss hat die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit von

den HLA-Risikogenotypen DR 3/4 bzw. 4/4, vom Geschlecht (männlich versus weiblich), vom Wohnort (Norddeutschland versus Süddeutschland) und des Elternteils, das an Typ 1 Diabetes erkrankt ist (Proband Mutter versus Proband Vater)?

Da innerhalb Europas ein ausgeprägtes Nord-Südgefälle bezüglich der Inzidenzrate des Typ 1 Diabetes existiert, sollten mit Hilfe der BABYDIAB-Studie, einer prospektiven deutschlandweiten Verlaufsuntersuchung bei Kindern mit einem diabetischen Elternteil, folgende Fragestellungen beantwortet werden:

4. Ist auch innerhalb Deutschlands ein Nord-Südgefälle im Hinblick auf die Entstehung von Inselautoimmunität und in der Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes zu beobachten?
5. Gibt es mögliche Unterschiede in der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studie?
6. Gibt es mögliche Unterschiede in der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der Inselautoantikörper positiven und negativen Kinder der Nested Fall-Kontroll-Studie?

## 2.2 Methode

### 2.2.1 Untersuchungspopulation: BABYDIAB-Studie

Als Untersuchungspopulation wurden Teilnehmer der BABYDIAB-Studie herangezogen, die am Institut für Diabetesforschung in München durchgeführt wird. Die BABYDIAB-Studie ist eine prospektive Verlaufsuntersuchung bei Kindern von Eltern mit Typ 1 Diabetes. Die Rekrutierung fand von 1989 bis 2000 in ganz Deutschland statt. Ziele dieser Studie sind: Identifizierung des Zeitpunktes der Entstehung von Inselautoimmunität im Leben eines Typ 1 Diabetikers, Charakterisierung der Entstehungsphase von Inselautoimmunität und Evaluierung des Zusammenhangs zwischen Inselautoimmunität und genetischen Risikomarkern sowie Umweltfaktoren. Nabelschnurblut wurde bei Geburt und venöses Blut bei 9 Monaten, 2, 5, 8, 11 und 14 Jahren gesammelt. Autoantikörper gegen Insulin (IAA), Glutamatdecarboxylase (GADA) und gegen die Tyrosinphosphatase (IA-2A) werden in jeder Blutprobe zu jedem Untersuchungszeitpunkt gemessen und halbjährlich bis jährlich nach dem Auftreten von Inselautoantikörpern. Anhand von Fragebögen, die ebenfalls zu jedem Follow-up-Besuch ausgefüllt werden, werden Ernährungs- und Umweltfaktoren wie Stillgewohnheiten, Zeitpunkt der Einführung von Beikost und Impfungen evaluiert. 1709 Kinder wurden bei Geburt für die Studie rekrutiert. Insgesamt haben 1650 Kinder mindestens an der Nachuntersuchung mit 9 Monaten teilgenommen und erfüllen somit die Einschlusskriterien, die mindestens eine Nachuntersuchung nach Geburt vorsehen. Davon haben 1021 Kinder eine Mutter mit Typ 1 Diabetes, 603 Kinder einem Vater mit Typ 1 Diabetes und bei 26 Kinder sind beide Elternteile an einem Typ 1 Diabetes erkrankt. Das mittlere follow-up Alter der Kinder von Geburt bis zum Zeitpunkt der Analyse im November 2005 betrug 7,5 Jahre mit einer Streubreite von 9 Monaten bis 16 Jahren, während die drop-out Rate im Alter von 2 Jahren 7,5% und im Alter von 5 Jahren 14,6% betrug. Weiterhin wurden bei 1462 Kindern die HLA DR-DQ Genotypen aus der 2-Jahres-Probe bestimmt. 106 Kinder (7,3%) haben den HLA DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201/DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302 (DR3 /DR4-DQ8) Genotyp und 59 Kinder (4,0%) den DRB1\*04-DQA1\*0301-BQB1\*0302/DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302 Genotyp, die mit dem höchstem Typ 1 Diabetes Risiko von 10-20% verbunden sind.

### *Endpunkte der BABYDIAB-Studie*

Die Endpunkte der BABYDIAB-Studie sind die Entwicklung von Inselautoimmunität bzw. eines Typ 1 Diabetes. Inselautoimmunität ist hier definiert als das Vorhandensein positiver Antikörper-Titer bei einem oder mehreren Inselautoantikörpern (IAA, GAGA, IA-2A) in mindestens 2 aufeinander folgenden Blutproben. Zur Bestätigung der Inselautoimmunität, d. h. von persistierenden Inselautoantikörpern wird innerhalb von 6 Monaten eine 2. Blutprobe angefordert. Wird in einer 2. Blutprobe die Inselautoimmunität nicht bestätigt, gilt das Kind als Inselautoantikörper negativ.

### *Kinder mit Inselautoimmunität*

Von den 1650 Kindern der BABYDIAB-Studie entwickelten bis zum Analysezeitpunkt (November 2005) 107 Kinder persistierende Inselautoantikörper und 34 der 107 Kinder mit persistierenden Inselautoantikörpern erkrankten an einem Typ 1 Diabetes. 1543 Kinder waren bis zum Analysezeitpunkt Inselautoantikörper negativ.

Die Genehmigung der Studie erfolgt durch die Ethikkommission von Bayern (Bayerische Landesärztekammer Nr. 95357).

## **2.2.2 Zusammensetzung der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation**

Zur Analyse der Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes, wurde aus dem BABYDIAB Kollektiv eine Nested Fall-Kontroll-Studie konzipiert: Ab Herbst 2003 wurde zu jedem Inselautoantikörper positivem Kind jeweils mindestens 1 Kontrollkind mit vergleichbarem Geburtsdatum (+/- 1 Monat) und gleichem HLA-Genotyp ausgewählt.

Von 234 Kindern der BABYDIAB-Studie konnten Trinkwasseranalysen gesammelt werden. Von diesen Kindern sind 95 Kinder Inselautoantikörper positiv und davon erkrankten 30 Kinder an einem Typ 1 Diabetes. Weitere 139 Kinder sind Inselautoantikörper negativ. Die genaue Zusammensetzung der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation ist in Tab. 2: aufgeführt.

**Tab. 2:** Zusammensetzung der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation

	Inselautoantikörper positive Kinder	Inselautoantikörper negative Kinder
Anzahl gesamt	95	139
Alter zum Zeitpunkt der Analyse in Jahren (Durchschnitt)	9,7	10,1
HLA-Risikogenotypen DR3/4; DR4/4	32 (33,7%)	47 (33,8%)
Typ 1 Diabetes (n)	30	0
Inselautoantikörper (n)		
= 1	39	–
≥ 2	56	–
Alter bei Auftreten des 1. Inselautoantikörpers (Jahre)	2,15 (0,53 - 11,06)	–
Geschlecht (n)		
weiblich	48	69
männlich	47	70
Proband (n)		
Mutter	50	94
Vater	40	42
Beide Elternteile	5	3
Wohnsitz Nord- Deutschland (n)	49 (51,6%)	81 (58,3%)
Rauchen während der Schwangerschaft (Mutter)	11 (11,6%)	16 (11,5%)

### **2.2.3 Daten der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr**

Daten der Trinkwasserqualität wurden ab Herbst 2003 von den Versorgungsunternehmen angefordert, die während des ersten Lebensjahres des Kindes für die Trinkwasserversorgung zuständig waren. Dabei wurde die Adresse des Kindes während des ersten Lebensjahres anhand der Fragebögen ermittelt bzw. bei der Familie telefonisch nachgefragt. Die Trinkwasserversorgungsunternehmen wurden entweder telefonisch oder schriftlich gebeten, die Jahresmittelwerte der physikalisch-chemischen Parameter der von der Trinkwasserverordnung 1990 vorgeschriebenen Untersuchungsanalysen zu faxen oder per Post zu schicken. Analysiert wurden folgende Trinkwasserparameter: pH-Wert, pH-Wert nach Calciumcarbonatsättigung, Färbung, Trübung, Nitrat, Nitrit, Aluminium, Eisen und Mangan.

### **2.2.4 Trinkwasserdaten der Versorgungsunternehmen**

Die Zusammensetzungen der gesendeten und analysierten Trinkwasseranalysen sind in Tab. 3 dargestellt. Die gesendeten Trinkwasseranalysen enthielten meist Jahresmittelwerte der gemessenen Parameterkonzentrationen aber auch zum Teil nur Werte aus einer Trinkwasseranalyse des Geburtsjahres. In wenigen Fällen konnten jedoch die Versorgungsunternehmen Trinkwasseranalysen nicht aus dem geforderten Geburtsjahr herausuchen und übermittelten Trinkwasseranalysen aus einem anderen Jahrgang mit der Zusicherung, dass sich die Parameter nicht geändert haben. Obwohl um die vollständigen Analysendaten der physikalisch-chemischen Parameter gebeten wurde, schickten die Versorgungsunternehmen teilweise auch nur Auszüge aus der Analyse zu.

Allen gesendeten Trinkwasseranalysen liegt die Trinkwasserverordnung von 1990 zu Grunde.

Gründe für das Fehlen von Trinkwasseranalysen weiterer Kinder waren: keine Informationen über die Adresse während des erstens Lebensjahres oder keine Rückmeldung der Trinkwasserversorgungsunternehmen trotz mehrmaliger Anfragen.

Bei 4 Probanden wurden bei den Parametern Trübung, Eisen, Aluminium und Mangan laut der Trinkwasserverordnung von 1990 Grenzwertüberschreitungen gemessen.

**Tab. 3:** Zusammensetzung der gesendeten Trinkwasseranalysen

	Anzahl (n)	Median	Minimum	Maximum	Grenzwerte TVO
pH-Wert	228	7,62	6,52	9,28	6,5 - 9,5
pHc-Wert	70	7,63	7,0	8,88	
Färbung (m <sup>-1</sup> )	106	0,08	< Nachweisgrenze	0,42	0,5
Trübung (TE/F)	123	0,115	< Nachweisgrenze	3,2	1,5
Nitrat (mg/l)	234	9,6	< Nachweisgrenze	43	50
Nitrit (mg/l)	219	0,009	< Nachweisgrenze	0,09	0,1
Eisen (mg/l)	196	0,01	< Nachweisgrenze	0,56	0,2
Aluminium (mg/l)	147	0,019	< Nachweisgrenze	0,65	0,2
Mangan (mg/l)	192	0,0049	< Nachweisgrenze	2,03	0,05

TVO: Trinkwasserverordnung

### 2.2.5 Definition Nord-/Süddeutschland

Anhand der vorgelegenen Adressen im ersten Lebensjahr wurden die 234 Kinder der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation in Nord- und Süddeutschland eingeteilt. Als Süddeutschland wurden die Bundesländer Baden-Württemberg und Bayern definiert, während die restlichen Bundesländer als Norddeutschland definiert wurden.

Weiterhin wurden auch alle weiteren Kinder der BABYDIAB-Studie mit Hilfe der aktuellen Adresse in Nord- und Süddeutschland eingeteilt.



## 2.2.6 Statistik

Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Softwarepaketes SPSS, Version 13.0 durchgeführt.

Für die Analyse, ob es einen Zusammenhang zwischen der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr und der Inselautoimmunität gibt, wurden die ausgewählten Trinkwasserparameter der 95 Inselautoantikörper positiven Kinder mit denen der 139 Inselautoantikörper negativen Kinder nach Überprüfung auf Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test mit Lilliefors Korrektur) mit dem Mann-Whitney-U-Test verglichen. Dieser Test wurde ebenfalls für die Untersuchung möglicher Unterschiede in der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der gesamten BABYDIAB Population und innerhalb der Inselautoantikörper positiven und negativen Gruppen angewendet. Die Lifetable-Analyse wurde für die Fragestellung des Einflusses der Trinkwasserqualität auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes angewandt. Es wurden hier die Mediane der Trinkwasserparameter analysiert. Weiterhin wurde die Lifetable-Analyse zur Überprüfung möglicher Unterschiede in der BABYDIAB-Population zwischen Nord- und Süddeutschland hinsichtlich Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes durchgeführt. Die Odds Ratio und die korrigierte Odds Ratio wurde mit Hilfe der Cox-Regression berechnet. Die Korrektur für multiples Testen erfolgte nach der Bonferroni Methode.

Für alle Analysen wurde ein p-Wert von  $< 0,05$  als signifikant eingestuft.

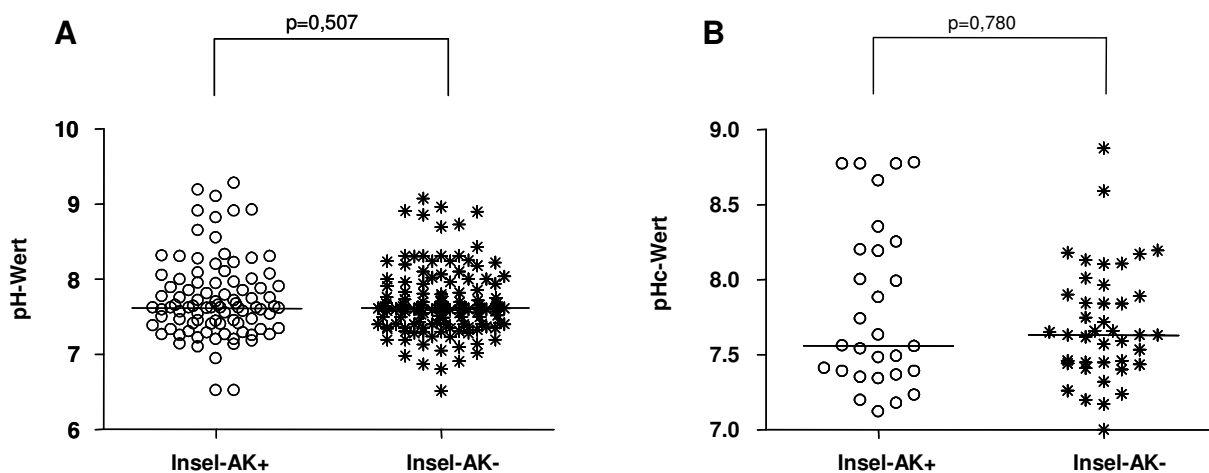
## 2.3 Ergebnisse

### 2.3.1 Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität

Für diese Untersuchung wurden die Trinkwasserparameter pH-Wert, pH-Wert nach Calciumcarbonatsättigung (pHc), Färbung, Trübung, Nitrat, Nitrit, Eisen Aluminium und Mangan aus dem ersten Lebensjahr der Inselautoantikörper positiven Kinder mit denen der Inselautoantikörper negativen Kindern verglichen.

#### ***pH-Wert und pHc-Wert***

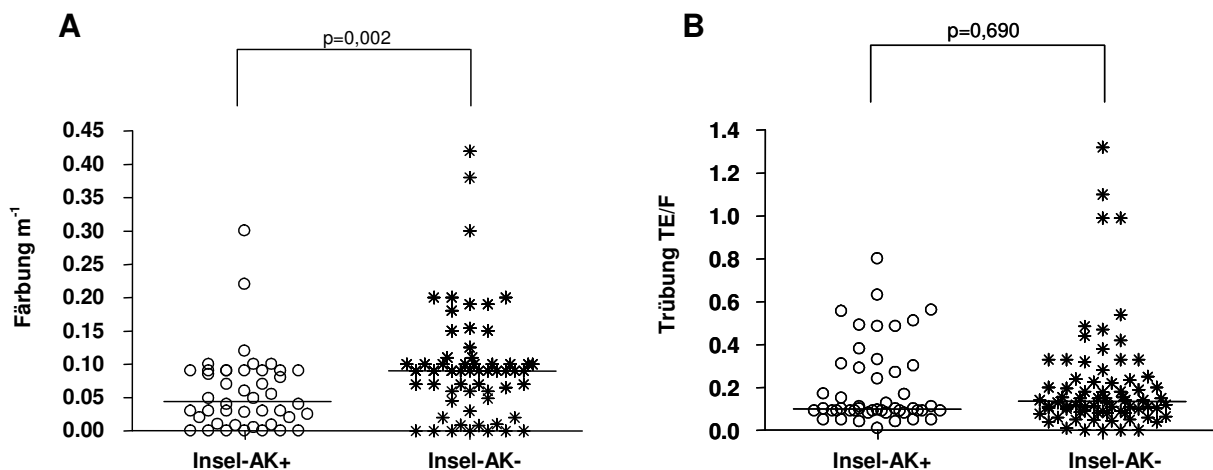
Von den 95 Inselautoantikörper positiven Kindern konnten bei 93 bzw. 29 Kindern Daten zum pH-Wert bzw. pHc-Wert des Trinkwassers im ersten Lebensjahr gesammelt werden. Von 135 bzw. 41 Inselautokörper negativen Kindern lagen Daten zum pH-Wert bzw. pHc-Wert vor. Die Analyse von beiden Parametern ergab, dass keine signifikanten Unterschiede bezüglich pH-Wert und pHc-Wert des Trinkwassers im ersten Lebensjahr zwischen den Inselautoantikörper positiven und negativen Kindern gefunden werden konnten ( $p=0,507$  bzw.  $p=0,780$ ) (Tab. 4; Abb. 1). Ferner konnte auch kein Einfluss dieser Parameter auf die Entstehung von Inselautoimmunität aufgezeigt werden, wenn für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes korrigiert wurde (Tab. 5).



**Abb. 1:** Vergleich des pH-Wertes (A) und des pHc-Wertes des Trinkwassers im ersten Lebensjahr (B) von den Kindern, die später Inselautoantikörper entwickelt haben (○) gegenüber den Kindern, die keine Inselautoantikörper entwickelt haben (\*).

## Färbung und Trübung

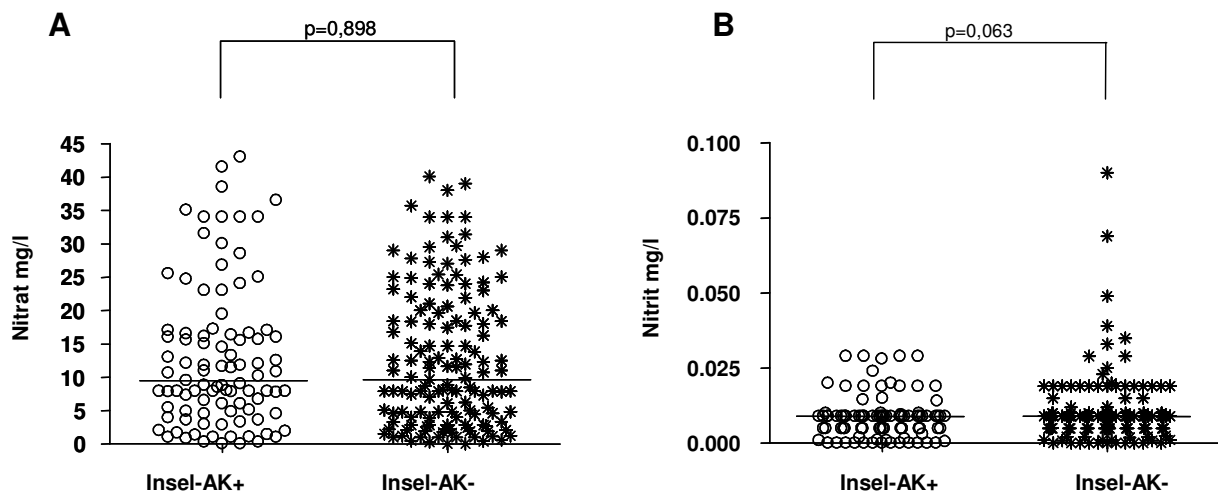
Von 44 bzw. 49 der 95 Inselautoantikörper positiven Kindern konnten Angaben zur Färbung bzw. Trübung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr gesammelt werden. Von den 139 Inselautoantikörper negativen Kindern lagen Angaben zur Färbung und Trübung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr bei 62 bzw. bei 74 Kindern vor. Der spektrale Absorptionskoeffizient (Färbung) des Trinkwassers im ersten Lebensjahr lag bei den Inselautoantikörper positiven Kindern signifikant niedriger als bei den Inselautoantikörper negativen Kindern ( $p=0,002$ ) (Tab. 4; Abb. 2). Auch nach Korrektur für multiples Testen war der spektrale Absorptionskoeffizient (Färbung) des Trinkwassers im ersten Lebensjahr bei den Inselautoantikörper positiven Kindern signifikant niedriger als bei den Inselautoantikörper negativen Kindern ( $p=0,018$ ). Im Gegensatz dazu hat sich die Trübung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr zwischen den beiden Gruppen nicht unterschieden ( $p=0,690$ ) (Tab. 4; Abb. 2). Weiterhin war aber nach Korrektur für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes ein spektraler Absorptionskoeffizient von  $< 0,0825$  mit einem signifikant verringerten Risiko für Inselautoimmunität verbunden: OR 0,5; 95 % Konfidenzintervall 0,2-0,9,  $p=0,02$  (Tab. 5). Aber nach Korrektur für multiples Testen war dieses Ergebnis nicht mehr signifikant ( $p=0,18$ ).



**Abb. 2:** Vergleich von Färbung (A) und Trübung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr (B) zwischen den Kindern, die später im Leben Inselautoantikörper entwickelt haben (○) gegenüber denen, die keine Inselautoantikörper entwickelt haben (\*).

### Nitrat und Nitrit

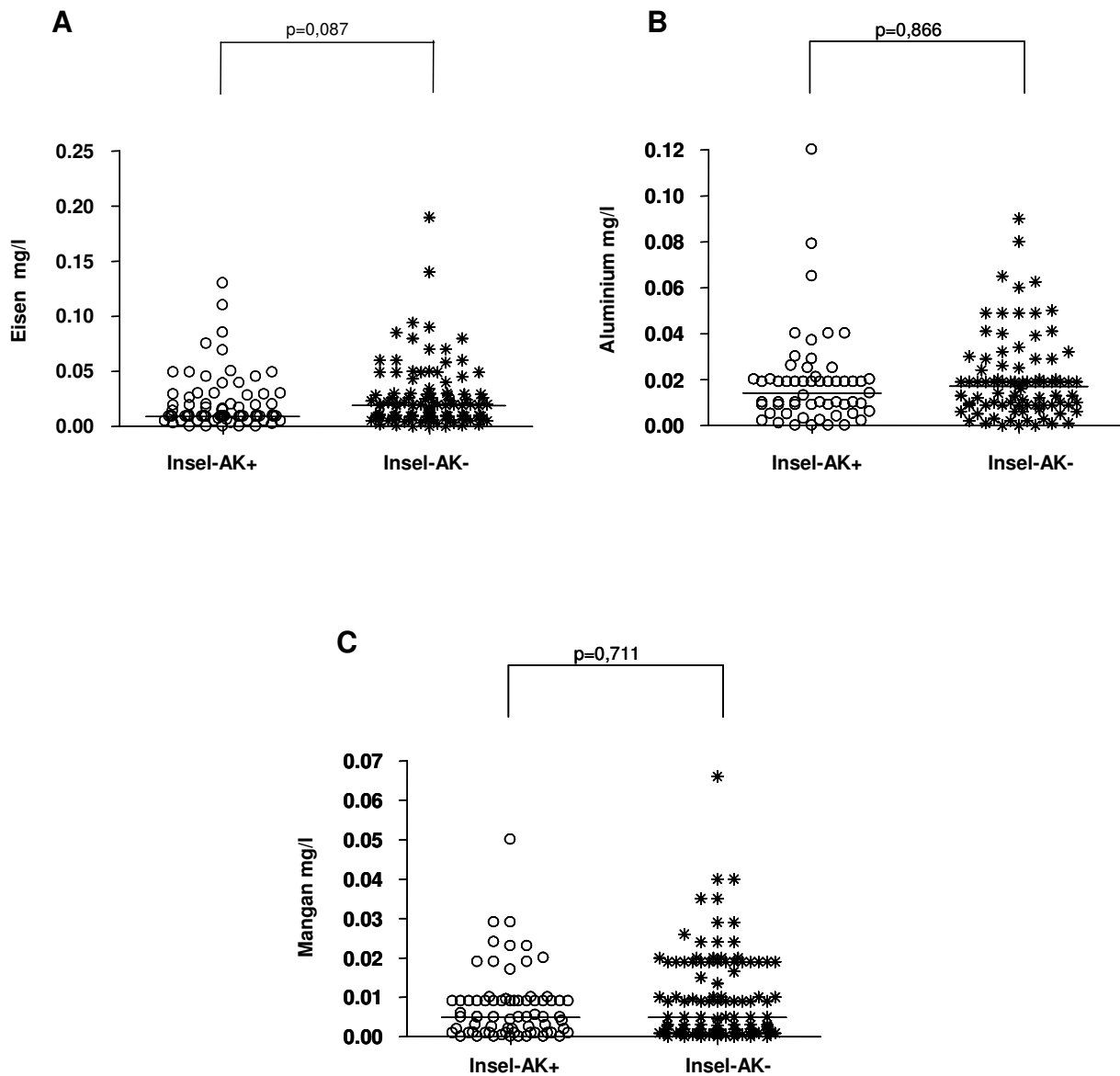
Von allen 95 Inselautoantikörper positiven und von allen 139 Inselautoantikörper negativen Kindern konnten Angaben zur Nitratkonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr gesammelt werden. Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Nitratkonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr zwischen beiden Gruppen beobachtet werden ( $p=0,898$ ) (Tab. 4; Abb. 3). Bei 92 Inselautoantikörper positiven Kindern und bei 127 Inselautoantikörper negativen Kindern lagen gleichzeitig Angaben zur Nitritkonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr vor. Die Nitritkonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr war tendenziell niedriger bei den Inselautoantikörper positiven Kindern im Vergleich zu den Inselautoantikörper negativen Kindern. Dieses Ergebnis war aber nicht signifikant ( $p=0,063$ ) (Tab. 4; Abb. 3). Auch nach Korrektur für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes konnte kein Einfluss der Nitrat- und Nitritkonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr auf die Entstehung von Inselautoimmunität beobachtet werden (Tab. 5).



**Abb. 3:** Vergleich der Nitratkonzentration (A) und der Nitritkonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr (B) zwischen den Kindern, die später im Leben Inselautoantikörper entwickelt haben (○) gegenüber denen, die keine Inselautoantikörper entwickelt haben (\*).

### ***Eisen, Aluminium und Mangan***

Von den 95 Inselautoantikörper positiven Kindern konnten bei 79 Kindern Angaben zur Eisenkonzentration, bei 60 Kinder Angaben zur Aluminiumkonzentration und bei 76 Kindern Angaben zur Mangankonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr gesammelt werden. Von den 139 Inselautoantikörper negativen Kindern lagen bei 117 Kindern Daten zur Eisenkonzentration, bei 87 Kindern Daten zur Aluminiumkonzentration und bei 116 Kindern Daten zur Mangankonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr vor. Die Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr haben sich nicht signifikant zwischen den Inselautoantikörper positiven und negativen Kindern unterschieden ( $p=0,087$  /  $p=0,866$  /  $p=0,771$ ) (Tab. 4; Abb. 4). Ferner konnte auch kein Einfluss der Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentrationen im Trinkwasser des ersten Lebensjahres auf die Entstehung von Inselautoimmunität aufgezeigt werden, wenn für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes korrigiert wurde (Tab. 5).



**Abb. 4:** Vergleich der Eisenkonzentrationen (**A**), Aluminiumkonzentrationen (**B**) und Mangankonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr (**C**) zwischen den Kindern, die später Inselautoantikörper entwickelt haben (○) gegenüber den Kindern, die keine Inselautoantikörper entwickelt haben (\*).

**Tab. 4:** Mediane und Interquartilen Abstand der analysierten Trinkwasserparameter bei den untersuchten Inselautoantikörper positiven und negativen Kindern

Parameter	Anzahl	25. Perzentile	Median	75. Perzentile	p-Werte*
<b>pH-Wert</b>					
Insel-AK+	93	7,40	7,62	7,98	0,507
Insel-AK-	135	7,40	7,62	7,86	
<b>pHc-Wert</b>					
Insel-AK+	29	7,38	7,56	8,23	0,780
Insel-AK-	41	7,45	7,63	7,94	
<b>Färbung (m<sup>-1</sup>)</b>					
Insel-AK+	44	0,013	0,045	0,090	0,002
Insel-AK-	62	0,057	0,090	0,103	
<b>Trübung (TE/F)</b>					
Insel-AK+	49	0,090	0,100	0,305	0,690
Insel-AK-	74	0,084	0,135	0,236	
<b>Nitrat (mg/l)</b>					
Insel-AK+	95	4,80	9,50	16,60	0,898
Insel-AK-	139	3,84	9,24	21,23	
<b>Nitrit (mg/l)</b>					
Insel-AK+	92	0,005	0,009	0,009	0,063
Insel-AK-	127	0,005	0,009	0,010	
<b>Eisen (mg/l)</b>					
Insel-AK+	79	0,009	0,009	0,028	0,087
Insel-AK-	117	0,009	0,019	0,030	
<b>Aluminium (mg/l)</b>					
Insel-AK+	60	0,009	0,019	0,024	0,866
Insel-AK-	87	0,009	0,017	0,026	
<b>Mangan (mg/l)</b>					
Insel-AK+	76	0,001	0,0049	0,009	0,771
Insel-AK-	116	0,001	0,0049	0,019	

\* nicht korrigiert für multiples Testen

**Tab. 5:** Odds-Ratio für die Entstehung von Inselautoimmunität in Abhängigkeit von der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studie

Parameter	Insel-Ak+ (n)	Insel-Ak- (n)	Odds-Ratio (95% Konfidenz- intervall)	korrigierte Odds-Ratio (95% Konfidenz- intervall) <sup>§</sup>	p-Werte* korrigierte Odds- Ratio
<b>pH-Wert (Median)</b>					
< 7,62	48	77	0,8 (0,6 - 1,3)	0,8 (0,5 - 1,2)	0,260
≥ 7,62	45	58	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	
<b>pHc-Wert (Median)</b>					
< 7,63	16	21	1,3 (0,6 - 2,7)	1,3 (0,6 - 3,1)	0,476
≥ 7,63	13	20	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	
<b>Färbung (m<sup>-1</sup>) (Median)</b>					
< 0,0825	30	24	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,02
≥ 0,0825	14	30	0,4 (0,3 - 0,8)	0,5 (0,2 - 0,9)	
<b>Trübung (TE/F) (Median)</b>					
< 0,115	29	33	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,305
≥ 0,115	20	41	0,9 (0,6 - 1,4)	0,7 (0,4 - 1,3)	
<b>Nitrat (mg/l) (Median)</b>					
< 9,58	48	70	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,489
≥ 9,58	47	69	0,9 (0,6 - 1,4)	0,9 (0,6 - 1,3)	
<b>Nitrit (mg/l) (Median)</b>					
< 0,009	71	82	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,065
≥ 0,009	21	45	0,6 (0,4 - 1,0)	0,6 (0,4 - 1,0)	
<b>Eisen (mg/l) (Median)</b>					
< 0,01	46	54	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,240
≥ 0,01	33	63	0,7 (0,5 - 1,2)	0,8 (0,5 - 1,2)	
<b>Aluminium (mg/l) (Median)</b>					
< 0,019	41	60	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,552
≥ 0,019	19	27	1,2 (0,7 - 2,0)	1,2 (0,7 - 2,0)	
<b>Mangan (mg/l) (Median)</b>					
< 0,0049	39	61	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)	0,657
≥ 0,0049	37	55	1,0 (0,7 - 1,6)	1,1 (0,7 - 1,8)	

<sup>§</sup> korrigiert für: HLA DR 3/4, 4/4; Norddeutschland; Geschlecht-männlich; Mutter mit T1D

\* nicht korrigiert für multiples Testen

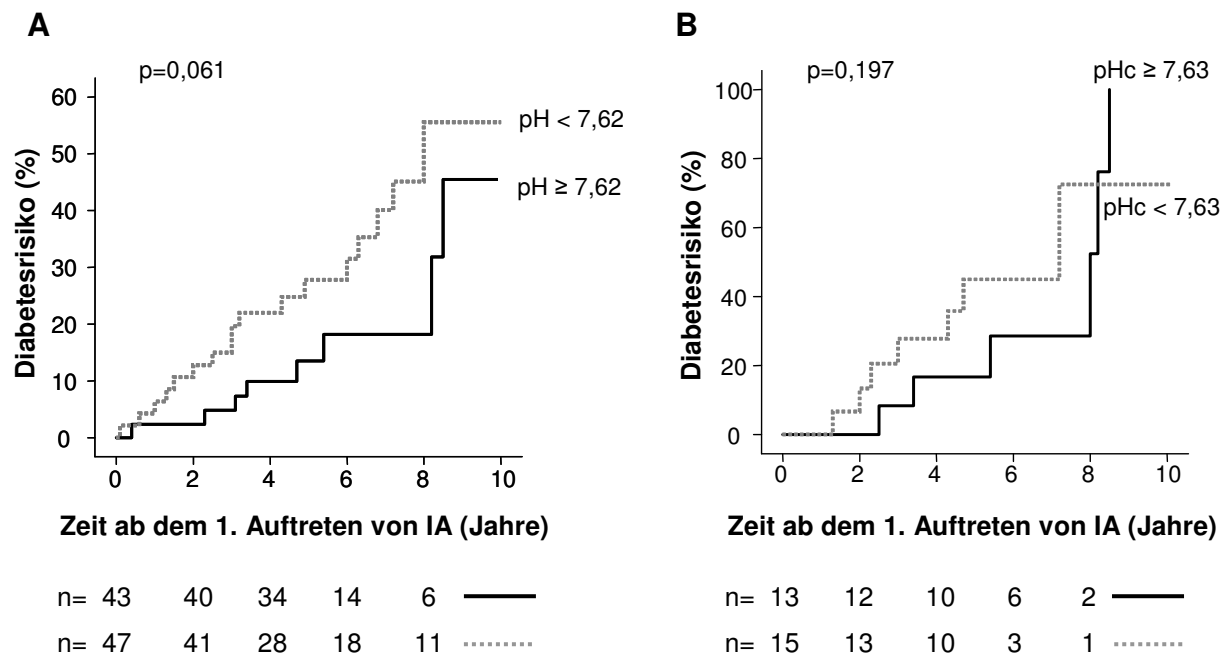


### **2.3.2 Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes**

Um zu untersuchen, ob die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr einen Einfluss auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes hat, wurden die Parameter pH-Wert, pH-Wert nach Calciumcarbonatsättigung, Färbung, Trübung, Nitrat, Nitrit, Eisen, Aluminium und Mangan aus den Trinkwasseranalysen im ersten Lebensjahr der Inselautoantikörper positiven Kinder anhand der Mediane mittels Lifetable-Analyse untersucht.

#### ***pH-Wert und pHc-Wert***

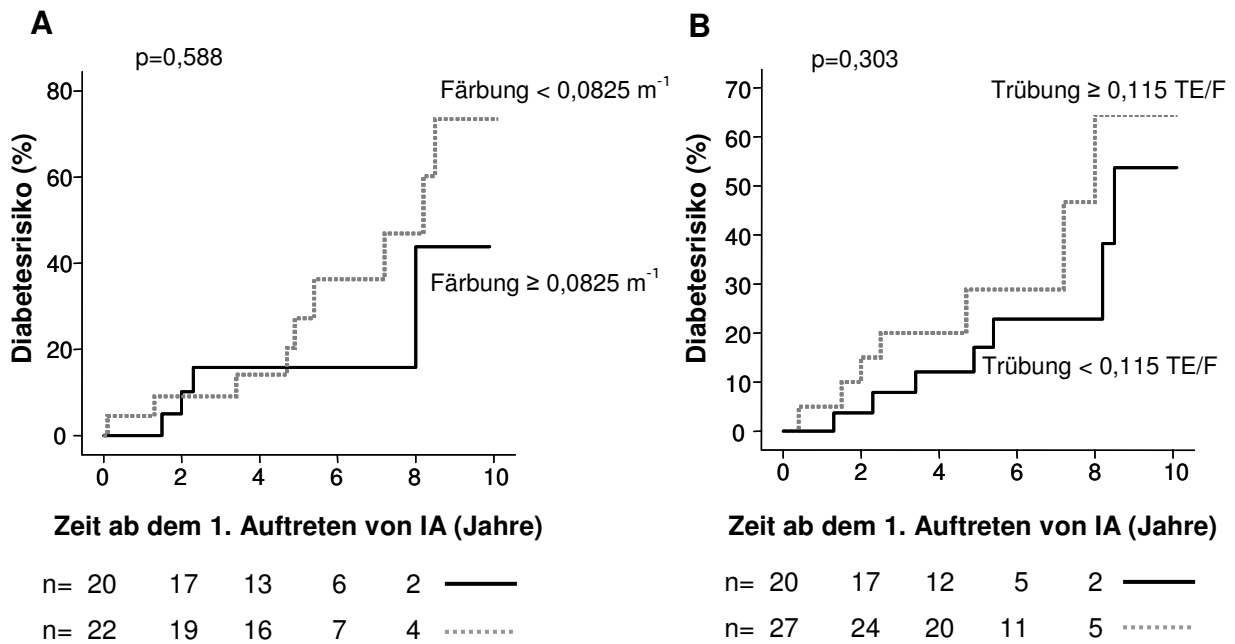
Bei Kindern mit Inselautoantikörpern wurde das kumulative Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes nicht durch den pH-Wert und bzw. den pHc-Wertes der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr beeinflusst (Abb. 5; Tab. 6). Tendenziell war ein niedriger pH-Wert  $< 7,62$  mit einem nicht signifikant erhöhtem Risiko für die Progression zum Typ 1 Diabetes verbunden ( $p=0,061$ ). Das kumulative Risiko für die Progression zum Typ 1 Diabetes innerhalb von 5 Jahren nach dem Auftreten von Inselautoimmunität betrug 28% (95% Konfidenzintervall: 14-42%) bei den Kindern, die einem Trinkwasser pH-Wert von  $< 7,62$  im ersten Lebensjahr exponiert waren im Vergleich zu 14 % (95% Konfidenzintervall: 2-26%) bei den Kindern, die einem Trinkwasser pH-Wert von  $> 7,62$  im ersten Lebensjahr exponiert waren (Abb. 5; Tab. 6). Aber nach Korrektur für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes waren pH-Werte  $< 7,62$  mit einem signifikant erhöhtem Risiko verbunden: OR 2,5; 95% Konfidenzintervall 1,1-5,8;  $p=0,034$  (Tab. 6). Nach Korrektur für multiples Testen war dieser Unterschied hinsichtlich des pH-Wertes nicht mehr zu beobachten ( $p=0,306$ ).



**Abb. 5:** Kumulatives Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit des mittleren pH-Wertes (**A**) und des mittleren pHc-Wertes (**B**). Die Zeit ab dem ersten Auftreten von Inselautoimmunität (IA) beginnt mit der Blutprobe, in der mind. ein persistierender Inselautoantikörper gefunden wird und endet bei Diabetesmanifestation oder der letzten verfügbaren Blutprobe. Unter dem Graph ist die Anzahl der untersuchten Kinder zum jeweiligen Zeitpunkt aufgeführt.

### **Färbung und Trübung**

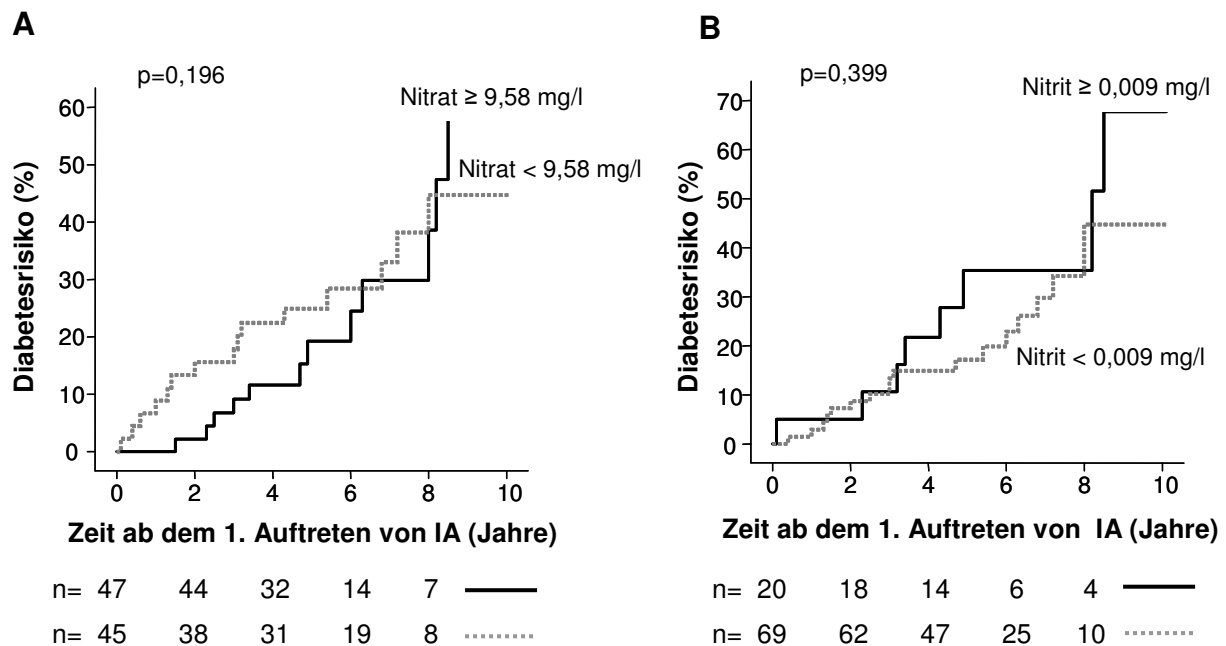
Bei Kindern mit Inselautoantikörpern wurde das kumulative Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes nicht durch spektralen Absorptionskoeffizienten (Färbung) und des spektralen Streukoeffizienten (Trübung) der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr beeinflusst ( $p=0,588$ ,  $p=0,303$ ) (Abb. 6; Tab. 6). Ferner konnte auch kein Einfluss der Färbung und der Trübung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes aufgezeigt werden, wenn für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes korrigiert wurde (Tab. 6).



**Abb. 6:** Kumulatives Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit des mittleren spektralen Absorptionskoeffizienten (Färbung) (A) und des mittleren spektralen Streukoeffizienten (Trübung) (B). Die Zeit ab dem ersten Auftreten von Inselautoimmunität (IA) beginnt mit der Blutprobe, in der mind. ein persistierender Inselautoantikörper gefunden wird und endet bei Diabetesmanifestation oder der letzten verfügbaren Blutprobe. Unter dem Graph ist die Anzahl der untersuchten Kinder zum jeweiligen Zeitpunkt aufgeführt.

### Nitrat und Nitrit

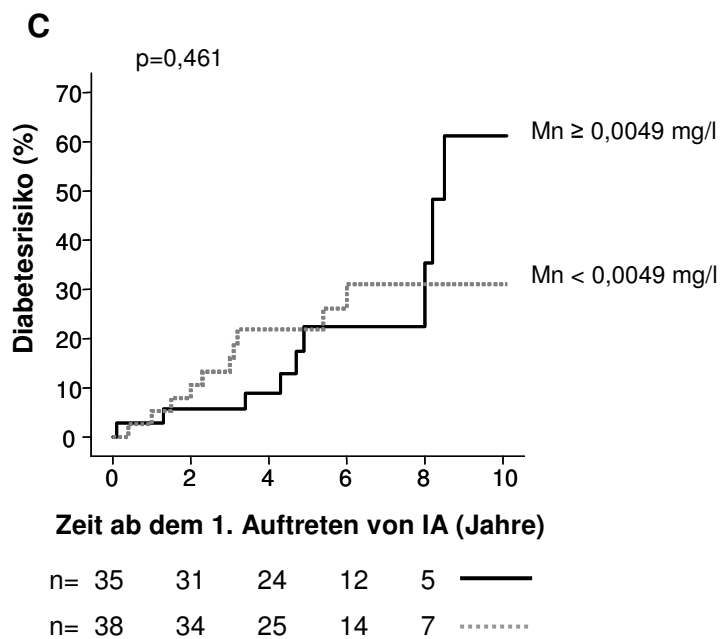
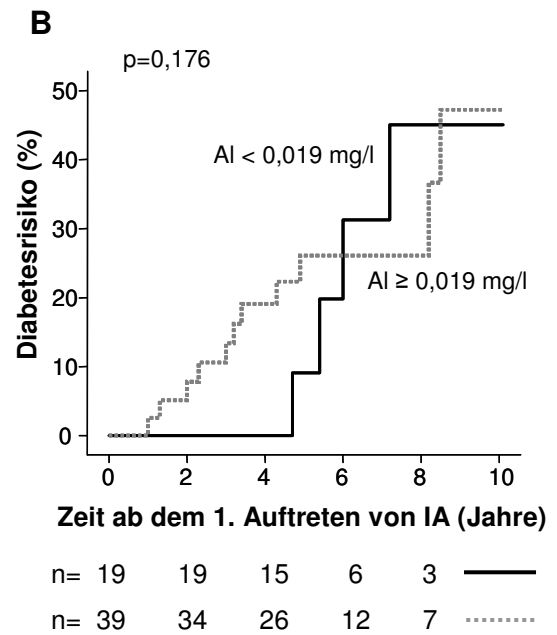
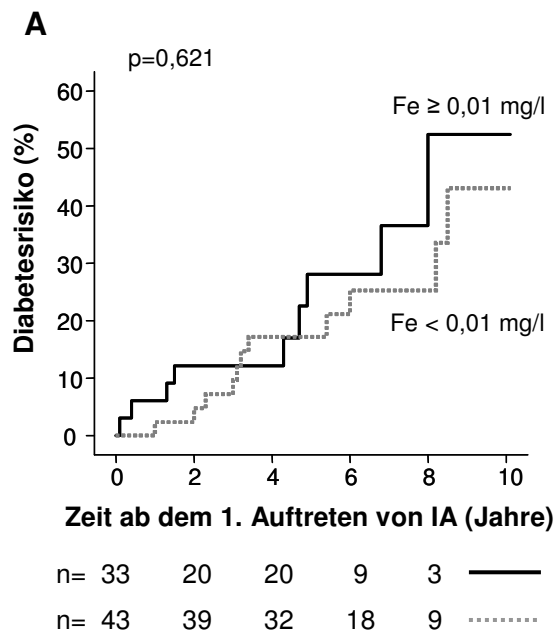
Bei Kindern mit Inselautoantikörpern wurde das kumulative Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes nicht durch die Nitrat- und die Nitritkonzentration der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr beeinflusst ( $p=0,196$ ,  $p=0,399$ ) (Abb. 7; Tab. 6). Auch nach Korrektur für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes konnte kein Einfluss der Nitrat- und Nitritkonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes beobachtet werden (Tab. 6).



**Abb. 7:** Kumulatives Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit des mittleren Nitratwertes (**A**) und des mittleren Nitritwertes (**B**). Die Zeit ab dem ersten Auftreten von Inselautoimmunität (IA) beginnt mit der Blutprobe, in der mind. ein persistierender Inselautoantikörper gefunden wird und endet bei Diabetesmanifestation oder der letzten verfügbaren Blutprobe. Unter dem Graph ist die Anzahl der untersuchten Kinder zum jeweiligen Zeitpunkt aufgeführt.

### **Eisen, Aluminium und Mangan**

Bei Kindern mit Inselautoantikörpern wurde das kumulative Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes nicht durch die Eisenkonzentration, die Aluminiumkonzentration und die Mangankonzentration mit der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr beeinflusst ( $p=0,621$ ,  $p=0,176$ ,  $p=0,461$ ) (Abb. 8; Tab. 6). Ebenso konnte nach Korrektur für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes kein Einfluss der Eisen-, Aluminium- und der Mangankonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes festgestellt werden (Tab. 6).



**Abb. 8:** Kumulatives Lifetable-Risiko für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit des mittleren Eisenwertes (**A**), des mittleren Aluminiumwertes (**B**) und des mittleren Manganwertes (**C**). Die Zeit ab dem ersten Auftreten von Inselautoimmunität (IA) beginnt mit der Blutprobe, in der mind. ein persistierender Inselautoantikörper gefunden wird und endet bei Diabetesmanifestation oder der letzten verfügbaren Blutprobe. Unter dem Graph ist die Anzahl der untersuchten Kinder zum jeweiligen Zeitpunkt aufgeführt.

**Tab. 6:** Odds-Ratio für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit der untersuchten Trinkwasserparameter im ersten Lebensjahr

Parameter	T1D	Odds-Ratio (95% Konfidenzintervall)	Korrigierte Odds-Ratio (95% Konfidenzintervall) <sup>§</sup>
<b>pH-Wert (Median)</b>			
< 7,62	19	2,0 (0,9 - 4,7)	2,5 (1,1 - 5,8) <sup>#</sup>
≥ 7,62	10	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
<b>pHc-Wert (Median)</b>			
< 7,63	19	1,5 (0,5 - 4,5)	1,4 (0,4 - 4,8)
≥ 7,63	10	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
<b>Färbung (m<sup>-1</sup>) (Median)</b>			
< 0,0825	19	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 0,0825	10	0,6 (0,2 - 1,8)	0,5 (0,2 - 1,8)
<b>Trübung (TE/F) (Median)</b>			
< 0,115	19	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 0,115	10	1,7 (0,9 - 4,9)	1,7 (0,6 - 5,2)
<b>Nitrat (mg/l) (Median)</b>			
< 9,58	18	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 9,58	12	0,8 (0,4 - 1,8)	0,9 (0,4 - 1,9)
<b>Nitrit (mg/l) (Median)</b>			
< 0,009	20	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 0,009	9	1,5 (0,7 - 5,5)	1,6 (0,6 - 4,0)
<b>Eisen (mg/l) (Median)</b>			
< 0,01	12	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 0,01	11	1,3 (0,5 - 3,2)	1,2 (0,5 - 3,1)
<b>Aluminium (mg/l) (Median)</b>			
< 0,019	13	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 0,019	4	0,7 (0,2 - 2,2)	0,6 (0,2 - 2,1)
<b>Mangan (mg/l) (Median)</b>			
< 0,0049	11	1,0 (Referenz)	1,0 (Referenz)
≥ 0,0049	11	1,0 (0,4 - 2,5)	0,7 (0,2 - 2,2)

<sup>#</sup> signifikant p < 0,05 (nicht korrigiert für multiples Testen)

<sup>§</sup> korrigiert für: HLA DR 3/4, 4/4; Norddeutschland; Geschlecht-männlich; Mutter mit T1D

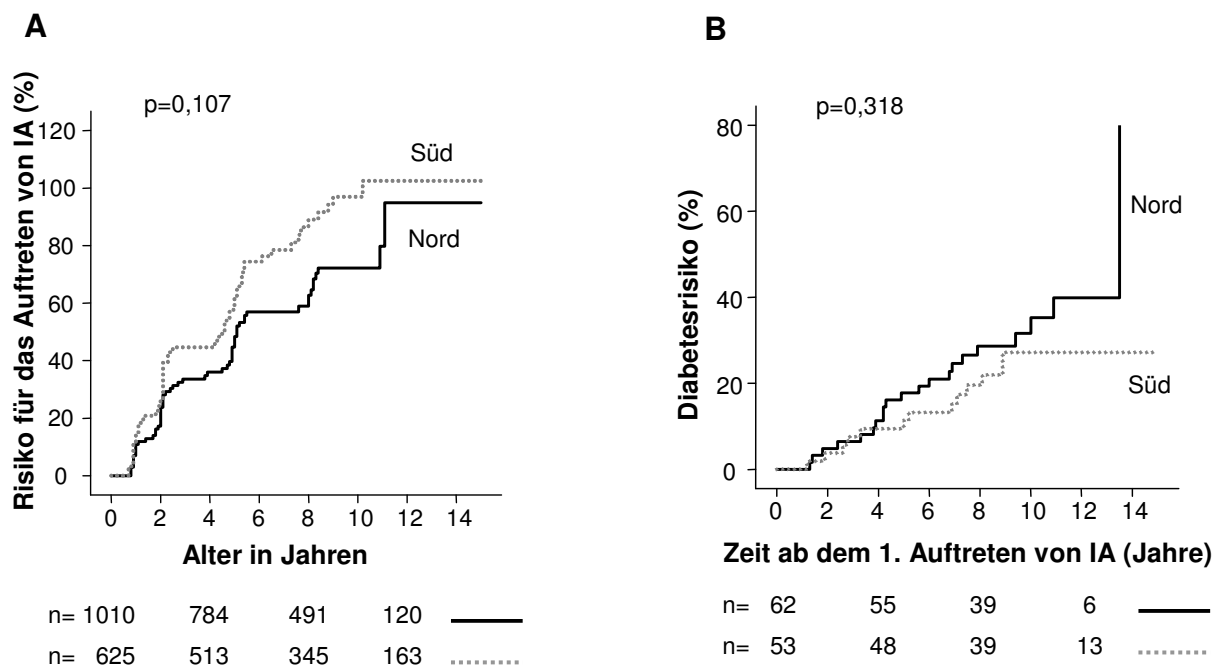
### 2.3.3 Risiko für die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes in Abhängigkeit des Wohnortes (Norddeutschland vs. Süddeutschland) innerhalb der BABYDIAB-Population

Für diese Untersuchung wurden alle 1650 Kinder der BABADIAB Studie anhand der aktuellen Adressen in Nord- und Süddeutschland eingeteilt. Als Süddeutschland wurden die Bundesländer Baden-Württemberg und Bayern definiert, während die restlichen Bundesländer als Norddeutschland definiert wurden. 58 Inselautoantikörper positive Kinder, darunter 21 Kinder mit Typ 1 Diabetes und 960 Inselautoantikörper negative Kinder hatten demnach ihren Wohnsitz in Norddeutschland, während 49 Inselautoantikörper positive Kinder, darunter 13 Kinder mit Typ 1 Diabetes und 583 Inselautoantikörper negative Kinder ihren Wohnsitz in Süddeutschland hatten (Tab. 7).

Die Lifetable-Analyse ergab keinen Unterschied in der Entstehung von Inselautoimmunität zwischen Kindern, die in Norddeutschland leben und Kindern, die in Süddeutschland leben ( $p=0,107$ ) (Abb.9). Weiterhin konnte ebenfalls kein Unterschied in der Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes zwischen Kindern, die in Norddeutschland leben und Kindern, die in Süddeutschland leben, beobachtet werden ( $p=0,318$ ) (Abb. 9).

**Tab. 7:** BABYDIAB-Population aufgeteilt nach Nord- und Süddeutschland

	<b>Inselautoantikörper positive Kinder</b>	<b>Typ 1 Diabetes</b>	<b>Inselautoantikörper negative Kinder</b>
Norddeutschland	58	21	960
Süddeutschland	49	13	583



**Abb. 9:** Kumulatives Lifetable-Risiko für die Entstehung von Inselautoimmunität (**A**) und für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes (**B**) in Abhängigkeit von Wohnort in Nord- und Süddeutschland. Im Graph (**A**) beginnt der Beobachtungszeitraum bei Geburt und endet bei Entstehung von Inselautoimmunität bzw. mit der letzten verfügbaren Blutprobe. Im Graph (**B**) beginnt die Zeit ab dem ersten Auftreten von Inselautoimmunität (IA) mit der Blutprobe, in der mind. ein persistierender Inselautoantikörper gefunden wird und endet bei Diabetesmanifestation oder der letzten verfügbaren Blutprobe. Unter dem Graph ist die Anzahl der Kinder zum jeweiligen Zeitpunkt aufgeführt.

### 2.3.4 Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr differenziert nach Nord- und Süddeutschland innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation

Anhand der vorliegenden Adressen wurden die 234 Kinder der Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation in Nord- und Süddeutschland eingeteilt. Auch hier wurden die Bundesländer Baden-Württemberg und Bayern als Süddeutschland definiert.

Die in Tabelle 8 dargestellte Gesamtübersicht aller untersuchten Trinkwasserparameter unter Berücksichtigung der geographischen Lage des Wohnortes zeigte, dass es z. T. signifikante Unterschiede zwischen Nord- und Süddeutschland gab. Der pH-Wert, pHc-Wert, die Färbung und die Trübung waren signifikant höher in Norddeutschland im Vergleich zu Süddeutschland ( $p=0,013$ ;  $p=0,006$ ;  $p=0,001$ ;  $p=0,013$ ). Auch die Nitrit-, Eisen- und Mangankonzentration waren in Norddeutschland höher als in Süddeutschland ( $p=0,000$ ). Bei den Parametern Nitrat- und Aluminiumkonzent-



ration waren keine signifikanten Unterschiede zu beobachten. Nach Korrektur für multiples Testen waren nur noch die Unterschiede bezüglich Färbung ( $p=0,009$ ), Nitrit-, Eisen- und Mangankonzentrationen ( $p=0,000$ ) signifikant zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studie.

In einem nächsten Schritt wurde untersucht, ob diese beobachteten Unterschiede der Trinkwasserqualität zwischen Nord- und Süddeutschland auch in der Gruppe der Inselautoantikörper positiven und negativen Kinder zu beobachten sind.

Innerhalb der Inselautoantikörper positiven Kinder zeigte sich ebenfalls, dass der pH-Wert und der pHc-Wert des Trinkwassers in Norddeutschland signifikant höher war als in Süddeutschland ( $p=0,005$ ;  $p=0,018$ ), (Tab. 9). Ferner waren auch die Parameter Nitrit-, Eisen- und Mangankonzentration signifikant höher in Norddeutschland als in Süddeutschland ( $p=0,000$ ;  $p=0,007$ ;  $p=0,000$ ), (Tab. 9). Im Gegensatz dazu gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der Inselautoantikörper positiven Kinder bezüglich Färbung, Trübung, Nitrat- und Aluminiumkonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr (Tab. 9). Nach Korrektur für multiples Testen waren innerhalb der Inselautoantikörper positiven Kinder nur noch der pH-Wert ( $p=0,045$ ), die Nitrit- und Mangankonzentrationen ( $p=0,000$ ) des Trinkwassers im ersten Lebensjahr signifikant höher in Norddeutschland als in Süddeutschland. Im Vergleich dazu zeigte sich innerhalb der Inselautoantikörper negativen Kinder bei den Parametern pH-Wert, pHc-Wert, Nitrat-, Nitrit- und Aluminiumkonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr keine signifikanten Unterschiede zwischen Nord- und Süddeutschland (Tab. 10). Färbung und Trübung waren signifikant höher in Norddeutschland als in Süddeutschland ( $p=0,003$ ;  $p=0,006$ ), (Tab. 10). Auch die Eisen- und Mangankonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr waren innerhalb der Inselautoantikörper negativen Kinder signifikant höher in Norddeutschland ( $p=0,000$ ) als in Süddeutschland (Tab. 10). Dennoch war die Färbung ( $p=0,027$ ) und die Eisen- und Mangankonzentration des Trinkwassers im ersten Lebensjahr ( $p=0,000$ ) nach der Korrektur für multiples Testen signifikant höher in Norddeutschland als in Süddeutschland innerhalb der Inselautoantikörper negativen Kinder. Nach Korrektur für multiples Testen war der Unterschied hinsichtlich der Trübung nicht mehr signifikant.

**Tab. 8:** Mediane und Interquartilen Abstand der analysierten Trinkwasserparameter von allen untersuchten Kindern der Nested Fall-Kontroll-Studie unter Berücksichtigung der Lage des Wohnortes (Nord-/Süddeutschland)

Parameter	Anzahl	25. Perzentile	Median	75. Perzentile	p-Werte*
<b>pH-Wert</b>					
Nord	129	7,40	7,65	8,22	p=0,013
Süd	99	7,40	7,62	7,73	
<b>pHc-Wert</b>					
Nord	48	7,45	7,74	8,19	p=0,006
Süd	22	7,36	7,47	7,67	
<b>Färbung (m<sup>-1</sup>)</b>					
Nord	75	0,030	0,090	0,100	p=0,001
Süd	31	0,000	0,049	0,090	
<b>Trübung (TE/F)</b>					
Nord	82	0,090	0,145	0,315	p=0,013
Süd	41	0,071	0,100	0,153	
<b>Nitrat (mg/l)</b>					
Nord	130	2,85	8,90	18,40	p=0,209
Süd	104	6,85	10,67	19,86	
<b>Nitrit (mg/l)</b>					
Nord	121	0,009	0,009	0,011	p=0,000
Süd	98	0,001	0,005	0,009	
<b>Eisen (mg/l)</b>					
Nord	116	0,009	0,020	0,033	p=0,000
Süd	80	0,005	0,009	0,017	
<b>Aluminium (mg/l)</b>					
Nord	95	0,009	0,013	0,025	p=0,357
Süd	52	0,007	0,019	0,025	
<b>Mangan (mg/l)</b>					
Nord	117	0,003	0,009	0,019	p=0,000
Süd	75	0,001	0,001	0,005	

\* nicht korrigiert für multiples Testen

**Tab. 9:** Mediane und Interquartilen Abstand der analysierten Trinkwasserparameter bei den Inselautoantikörper positiven Kindern unter Berücksichtigung der Lage des Wohnortes (Nord-/Süddeutschland)

Parameter	Anzahl	25. Perzentile	Median	75. Perzentile	p-Werte*
<b>pH-Wert</b>					
Nord	49	7,42	7,85	8,30	p=0,005
Süd	44	7,35	7,62	7,73	
<b>pHc-Wert</b>					
Nord	19	7,41	8,00	8,66	p=0,018
Süd	10	7,31	7,44	7,60	
<b>Färbung (m<sup>-1</sup>)</b>					
Nord	29	0,023	0,040	0,090	p=0,191
Süd	15	0,000	0,049	0,080	
<b>Trübung (TE/F)</b>					
Nord	32	0,090	0,105	0,308	p=0,657
Süd	17	0,085	0,100	0,310	
<b>Nitrat (mg/l)</b>					
Nord	49	3,12	9,00	16,42	p=0,267
Süd	46	7,15	10,43	21,29	
<b>Nitrit (mg/l)</b>					
Nord	48	0,009	0,009	0,015	p=0,000
Süd	44	0,001	0,005	0,009	
<b>Eisen (mg/l)</b>					
Nord	45	0,009	0,014	0,030	p=0,007
Süd	34	0,005	0,009	0,015	
<b>Aluminium (mg/l)</b>					
Nord	36	0,009	0,010	0,021	p=0,292
Süd	24	0,007	0,019	0,028	
<b>Mangan (mg/l)</b>					
Nord	45	0,005	0,009	0,014	p=0,000
Süd	31	0,001	0,001	0,005	

\* nicht korrigiert für multiples Testen

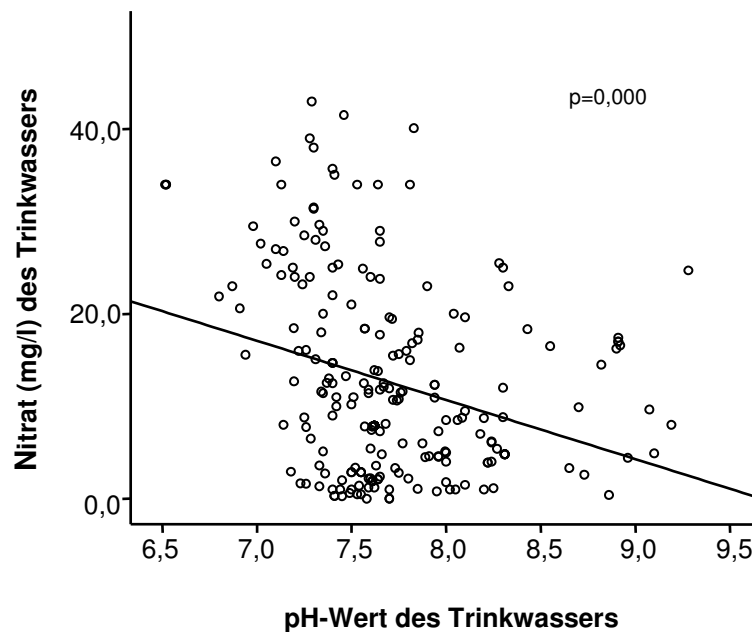
**Tab. 10:** Mediane und Interquartilen Abstand der analysierten Trinkwasserparameter bei den Inselautoantikörper negativen Kindern unter Berücksichtigung der Lage des Wohnortes (Nord-/Süddeutschland)

Parameter	Anzahl	25. Perzentile	Median	75. Perzentile	p-Werte*
<b>pH-Wert</b>					
Nord	80	7,40	7,61	8,06	p=0,358
Süd	55	7,40	7,62	7,73	
<b>pHc-Wert</b>					
Nord	29	7,46	7,66	8,06	p=0,136
Süd	12	7,41	7,50	7,80	
<b>Färbung (m<sup>-1</sup>)</b>					
Nord	46	0,070	0,090	0,150	p=0,003
Süd	16	0,002	0,055	0,090	
<b>Trübung (TE/F)</b>					
Nord	50	0,104	0,164	0,330	p=0,006
Süd	24	0,052	0,098	0,150	
<b>Nitrat (mg/l)</b>					
Nord	81	2,85	8,50	19,82	p=0,530
Süd	58	4,75	10,85	20,50	
<b>Nitrit (mg/l)</b>					
Nord	73	0,009	0,009	0,010	p=0,093
Süd	54	0,004	0,009	0,019	
<b>Eisen (mg/l)</b>					
Nord	71	0,010	0,020	0,040	p=0,000
Süd	46	0,006	0,009	0,022	
<b>Aluminium (mg/l)</b>					
Nord	59	0,009	0,013	0,029	p=0,753
Süd	28	0,007	0,019	0,024	
<b>Mangan (mg/l)</b>					
Nord	72	0,003	0,010	0,019	p=0,000
Süd	44	0,001	0,001	0,005	

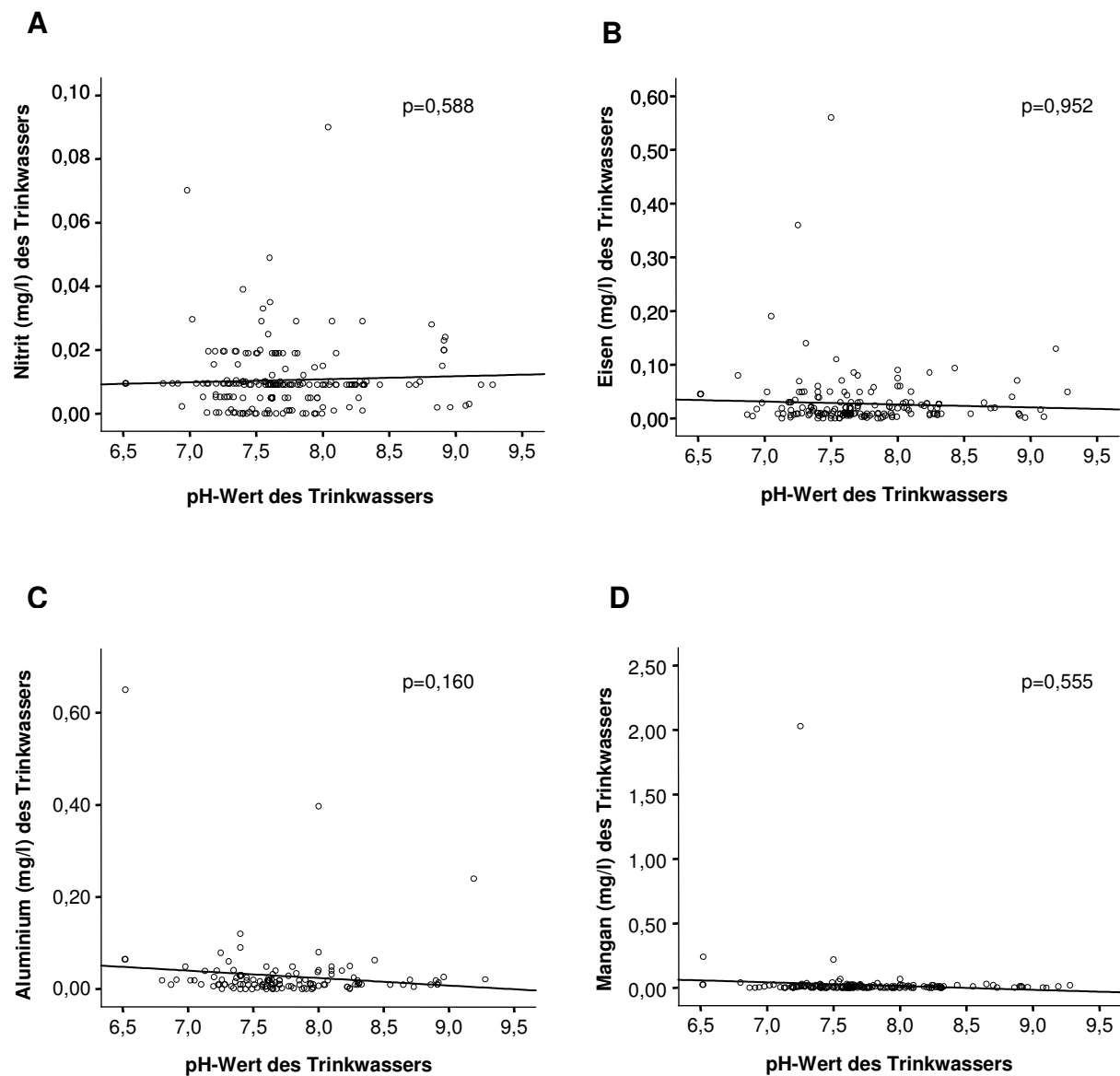
\* nicht korrigiert für multiples Testen

### 2.3.5 Nitrat-, Nitrit-, Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentrationen des Trinkwassers in Beziehung zum pH-Wert

Innerhalb der gesamten Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation waren die Nitratkonzentrationen signifikant invers mit den pH-Werten im Trinkwasser korreliert ( $r = -0,28$ ;  $p = 0,000$ ). Für eine zusätzliche Analyse wurden die pH-Werte des Trinkwassers der gesamten Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation in Quartilen eingeteilt. Die Nitratkonzentrationen waren signifikant höher in der 1. Quartile (pH-Wert  $< 7,40$ ; Nitrat: 20,78 mg/l) im Vergleich zu der 4. Quartile (pH-Wert  $\geq 7,94$ , Nitrat: 9,14 mg/l);  $p = 0,000$  (Abb. 10). Keine Assoziation konnte zwischen einem niedrigem pH-Wert und der Nitrit-, Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentration des Trinkwassers ( $p > 0,05$ ) gefunden werden (Abb. 11).



**Abb. 10:** Korrelation zwischen dem pH-Wert und den Nitratkonzentrationen des Trinkwassers im ersten Lebensjahr innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studie



**Abb. 11:** Korrelation zwischen dem pH-Wert und der Nitritkonzentrationen (A), der Eisenkonzentrationen (B), Aluminiumkonzentrationen (C) und Mangankonzentrationen (D) des Trinkwassers im ersten Lebensjahr innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studie

## **2.4 Diskussion**

### **2.4.1 Bedeutung der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr für die Entstehung von Inselautoimmunität und die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes**

Die Ursachen für Inselautoimmunität und für die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes sind noch nicht geklärt. Es wird vermutet, dass durch ein Zusammenspiel zwischen genetischen Faktoren und Umweltfaktoren die Zerstörung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen im Pankreas durch das eigene Immunsystem ausgelöst wird (Atkinson 2001, Gianani 2005, Knip 2005, Virtanen 2003). Die Jahre vor der klinischen Manifestation des Typ 1 Diabetes sind in der Phase des Prädiabetes durch die Autoimmunität gegen die Inselzellen gekennzeichnet (Atkinson 2001, Gianani 2005).

Da diese Inselautoimmunität bereits in den ersten beiden Lebensjahren auftreten kann, werden vor allem Umweltfaktoren als Auslöser von Inselautoimmunität vermutet, die zu diesem Zeitpunkt auf das Immunsystem einwirken (Knip 1999, 2005, Virtanen 2003). Dabei wurde auch die Rolle der Trinkwasserqualität in verschiedenen Studien erforscht. Eine positive Korrelation zwischen den Parametern niedriger pH-Wert, niedrige Zinkkonzentration bzw. erhöhte Nitratkonzentration und einem erhöhtem Typ 1 Diabetes Risiko wurde berichtet (Stene 2000, Parslow 1997). Diese Erkenntnisse beruhen jedoch zum größten Teil auf retrospektiven Studien bzw. auf Studien, die die Trinkwasserqualität zum Zeitpunkt der Diabetesdiagnose oder nach Manifestation analysiert haben. Deshalb ist es noch unklar, welchen Einfluss die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auf die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes hat.

Anhand einer Nested Fall-Kontroll-Studie im Rahmen der prospektiven BABYDIAB-Studie mit 139 Inselautoantikörper negativen Kindern und 95 Inselautoantikörper positiven Kindern bot sich nun die Möglichkeit zum ersten Mal den Einfluss der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auf die Entstehung von Inselautoimmunität und auf die Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes zu untersuchen. Hierzu wurden die Trinkwasserparameter pH-Wert, pH-Wert nach Calciumcarbonat-sättigung, Färbung, Trübung, Nitrat, Nitrit, Aluminium, Eisen und Mangan analysiert.

In der hier durchgeführten Nested Fall-Kontroll-Studie lag der spektrale Absorptionskoeffizient (Färbung) des Trinkwassers im ersten Lebensjahr bei den Inselautoantikörper positiven Kindern signifikant niedriger als bei den Inselautoantikörper negativen Kindern ( $p=0,018$ ). Die Farbe des Wassers kann durch organische Substanzen (Huminstoffe), Einbrüche von Fäkalien, physikalisch-chemische oder durch mikrobiologische Verunreinigungen beeinträchtigt sein. Infolgedessen sind die Gründe für diesen gefundenen Zusammenhang unklar. Außerdem lagen nur bei 44 Inselautoantikörper positiven Kindern und nur bei 62 Inselautoantikörper negativen Kindern Angaben zur Färbung des Trinkwassers vor. Ferner zeigte sich nach Korrektur für die HLA-Risikogenotypen DR 3/4 und 4/4, der Lage des Wohnortes (Norddeutschland), des Geschlechts (männlich) und des mütterlichen Typ 1 Diabetes, dass ein spektraler Absorptionskoeffizient von  $< 0,0825$  mit einem signifikant verringerten Risiko für Inselautoimmunität verbunden ist: OR 0,5; 95% Konfidenzintervall 0,2-0,9;  $p=0,02$ . Aber nach Korrektur für multiples Testen war dieses Ergebnis nicht mehr signifikant ( $p=0,18$ ).

Weiterhin wurden zwar tendenziell niedrigere Nitrit- und Eisenkonzentrationen im Trinkwasser des ersten Lebensjahres bei Inselautoantikörper positiven Kindern gefunden, jedoch konnten aber keine Unterschiede in den untersuchten Trinkwasserparametern pH-Wert, pHc-Wert, Trübung, Nitrat-, Nitrit-, Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentration im ersten Lebensjahr zwischen den Inselautoantikörper positiven und Inselautoantikörper negativen Kindern gefunden werden.

In Übereinstimmung mit den hier dargestellten Ergebnissen wurden in den Studien von Stene et al. und Zhao et al. ebenfalls keine Korrelationen zwischen den Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentrationen im Trinkwasser und dem Typ 1 Diabetes Risiko gefunden (Stene 2002, Zhao 2001). Dennoch ist hinzuzufügen, dass ein direkter Vergleich mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen aufgrund unterschiedlicher Methoden relativ schwierig ist.

Bezüglich der Progression zum Typ 1 Diabetes zeigte sich, dass Inselautoantikörper positive Kinder, die Trinkwasser mit einem niedrigeren pH-Wert ( $< 7,62$ ) im ersten Lebensjahr erhielten, ein 2,5-fach höheres Risiko besaßen einen Typ 1 Diabetes zu entwickeln als Kinder, die Trinkwasser mit einem höherem pH-Wert ( $\geq 7,62$ ) erhielten. Zu einem vergleichbaren Ergebnis kam auch eine Studie von Stene et al. mit 64 Typ 1 Diabetikern und 250 Kontrollpersonen, in der Leitungswasser mit einem pH-



Wert von 6,2–6,9 mit einem vierfach erhöhtem Typ 1 Diabetes Risiko verbunden war im Vergleich zu einem pH-Wert  $\geq 7,7$  (OR: 3,73; 95% Konfidenzintervall: 1,52- 9,15) (Stene 2000). Aber hier wurde die Trinkwasserqualität nach Diabetesmanifestation und nicht wie in der vorliegenden Analyse im ersten Lebensjahr beurteilt. Weiterhin lässt sich feststellen, dass der Bereich des pH-Wertes in der aktuellen Untersuchung viel größer war und weniger saure pH-Werte gemessen wurden als im Vergleich zu der vorangegangenen Studie. Obwohl in der vorliegenden Studie ein marginaler Zusammenhang zwischen einem niedrigeren pH-Wert des Trinkwassers und der Progression zum Typ 1 Diabetes dargestellt werden konnte, sind die Ursachen hierfür unklar und lassen zurzeit nur Spekulationen zu. Ein möglicher Mechanismus für das erhöhte Progressionsrisiko zum Typ 1 Diabetes bei niedrigem pH-Wert ist die Annahme, dass die Trinkwasserqualität sich über die Zeit nicht ändert. Auf der anderen Seite scheint der pH-Wert in Übereinstimmung mit den Überlegungen von Stene et al. 2002 nicht ursächlich an diesem Prozess beteiligt zu sein, sondern muss als ein Marker für die Bioverfügbarkeit bzw. Toxizität von Mineralien und als ein Faktor für das Überleben von Mikroorganismen angesehen werden. Zwar waren die Nitratkonzentrationen innerhalb der Nested Fall-Kontroll-Studie invers mit den pH-Werten im Trinkwasser verbunden, dennoch waren sowohl die Nitratkonzentrationen als auch alle anderen getesteten Parameter wie Nitrit, Eisen, Aluminium, Mangan, Färbung und Trübung nicht mit einem erhöhten Risiko für die Progression zum Typ 1 Diabetes assoziiert. Trotzdem wird vermutet, dass ein niedriger pH-Wert mit bestimmten Konzentrationen von Bakterien und mit dem Überleben von Enteroviren verbunden ist. Auf der anderen Seite ist aber auch bekannt, dass einige Mikroorganismen gegenüber verschiedenen Desinfektionsarten resistent sind. (Abbaszadegan 1993, Nwachuku 2004, Sjogren 1981, Salo 1976). Leider wurde in der vorliegenden Arbeit nicht der Gehalt an Mikroorganismen im Trinkwasser analysiert, so dass diese Hypothese nicht bestätigt werden kann. Jedoch muss hier berücksichtigt werden, dass nach Korrektur für multiples Testen ein Zusammenhang zwischen einem pH-Wert  $< 7,62$  und der Progression zum Typ 1 Diabetes nicht mehr nachgewiesen werden konnte.

Die  $\beta$ -Zell-toxischen Eigenschaften von N-Nitroso-Verbindungen sind schon lange bekannt. Da diese aus Nitrat bzw. Nitrit gebildet werden können, wurde in früheren Studien ein besonderer Focus auf die Nitrat- und Nitritmengen im Trinkwasser gelegt.

In der vorliegenden Analyse konnten keine Assoziationen zwischen den Trinkwasserparametern Nitrat und Nitrit und der Entstehung von Inselautoimmunität bzw. Progression zum Typ 1 Diabetes gefunden werden. Diese Ergebnisse stimmen mit Untersuchungen aus Sardinien, den Niederlanden und Finnland überein, die ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen der Nitrat- und Nitritkonzentration im Trinkwasser und dem Typ 1 Diabetes Risiko feststellen konnten (Casu 2000, von Maanen 2000, Virtanen 1993).

Im Gegensatz dazu zeigten andere epidemiologischen Studien einen Zusammenhang zwischen der Nitrat- bzw. Nitritaufnahme mit dem Trinkwasser und dem Typ 1 Diabetes Risiko. So war eine Nitratkonzentration von  $> 14,85$  mg/l im Trinkwasser mit einer erhöhten Typ 1 Diabetes Inzidenz in Yorkshire, England assoziiert. Die Studienpopulation bestand aus 1797 Typ 1 Diabetikern (0-16 Jahre), die zwischen 1978-1994 diagnostiziert wurden. Daten über die Nitratkonzentrationen im Trinkwasser basierten auf über 9000 Proben, die zwischen 1990-1995 in 148 Wasserversorgungszonen getestet wurden (Parslow 1997). Ebenso berichtete Kostraba et al. von einer positiven Korrelation zwischen dem Nitratgehalt im Trinkwasser und der Typ 1 Diabetes Inzidenz in Colorado. Bezirke mit einer Nitratkonzentration im Trinkwasser in der 3. Tertile (0,77 - 8,2 mg/l) hatten ein signifikant erhöhtes Typ 1 Diabetes Risiko im Vergleich zu Bezirken mit einem Nitratgehalt im Trinkwasser in der 1. Tertile (0,00 - 0,084 mg/l),  $p=0,02$  (Kostraba 1992). Jedoch wie einleitend schon angesprochen, beruhen diese Ergebnisse auf retrospektiven Untersuchungen zum Zeitpunkt der Diagnose oder nach Manifestation. Im Vergleich zu den anderen Ländern lagen die durchschnittlichen Nitratwerte in der vorliegenden Untersuchung bei 9,6 mg/l und somit höher als für andere Länder berichtet.

Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte sein, dass Nitrat und Nitrit hauptsächlich über Gemüse oder gepökeltes Fleisch aufgenommen wird (Laitinen 1993, Penttilä 1990, Petersen 1999). So zeigten Virtanen et al., dass diabetische Kinder und deren Mütter signifikant mehr Nitrit mit der Nahrung verzehrten als die Kontrollgruppe (0,9 mg vs. 0,8 mg,  $p < 0,001$ ). Interessanterweise hatte jedoch die Nitrataufnahme mit der Nahrung keinen Einfluss auf das Typ 1 Diabetes Risiko (Virtanen 1994). Ein weiterer wichtiger Punkt der in diesen Zusammenhang zu beachten ist, ist auch die Aufnahme von N-Nitroso-Verbindungen über die Nahrung. Die Daten von Verge et al. zeigten aber keinen Zusammenhang zwischen der Nitrosaminaufnahme über die Nahrung und dem Typ 1 Diabetes Risiko in Australien

(Verge 1994). Wiederum wurde in der Swedish Childhood Diabetes Study eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen dem häufigen Verzehr von Lebensmittel reich an Nitrosaminen (OR für geringen Verzehr 1,0; mittleren Verzehr 2,3; häufigen Verzehr 5,5), Nitrat und Nitrit (OR: 1,0; 0,8; 2,4) und dem Auftreten von Typ 1 Diabetes festgestellt (Dahlquist 1990). Leider wurden in der vorliegenden Arbeit nur die Nitrat- und Nitritgehalte im Trinkwasser untersucht und nicht noch zusätzlich die Aufnahme von Nitrat, Nitrit und Nitrosaminen mit der Nahrung.

Seit längerer Zeit wird weiterhin vermutet, dass Zink ein möglicher protektiver Faktor in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes ist. So zeigten Haglund et al. aus Schweden und Zhao et al. in England, dass höhere Zinkkonzentrationen im Grundwasser (OR: 0,8; 95% Konfidenzintervall: 0,7-0,9) bzw. Trinkwasser (Inzidenz-Rate-Ratio von 0,76; 95% Konfidenzintervall 0,59-0,97 bei einer Zinkkonzentration zwischen 22,27-27,00 µl) mit einem verminderten Typ 1 Diabetes Risiko einhergeht (Haglund 1996, Zhao 2001). Bedauerlicherweise wurden die Zinkkonzentrationen im Trinkwasser durch die Wasserwerke in der vorliegenden Untersuchung nicht bestimmt, somit konnte diese Assoziation, die in vorangegangenen Studien berichtet wurde, nicht überprüft werden. Aber auch hier ist zu erwähnen, dass der Hauptanteil der Zinkaufnahme über andere Lebensmittelmittel erfolgt (Scherz 2006).

Ein limitierender Faktor in der vorliegenden Arbeit ist die gemessene Trinkwasserqualität durch die Wasserwerke an den Trinkwasserversorgungsstellen. Leider konnte nicht das Leitungswasser von jeder Familie analysiert werden und es könnten somit kleine Abweichungen zwischen der gemessenen Trinkwasserqualität durch die Wasserwerke und der Qualität des Leitungswassers aufgrund von unterschiedlichen Rohrleitungssystemen in den Haushalten bestehen.

Ein weiterer Kritikpunkt dieser Arbeit ist die nicht vorhandene Information über die aufgenommenen Trinkwassermengen der Kinder im ersten Lebensjahr bzw. die fehlende Information über die Art des am häufigsten verwendeten Trinkwassers (Leitungswassers, Brunnenwasser, gekauftes Mineralwasser). Die Daten von der DONALD Studie weisen darauf hin, dass Formula ernährte Kinder mehr Trinkwasser konsumieren als gestillte Kinder aufgrund der Zubereitung der Formulanahrungen auf Pulverbasis. Die dabei aufgenommenen Trinkwassermengen wurden anhand von 3-Tages-Ernährungsprotokollen berechnet. Weiterhin kalkultierten sie ein Szenario

über die aufgenommenen Nitratmengen über das Trinkwasser und schätzten die Nitrataufnahme am höchsten für die Formula ernährten Kinder ein (Hilbig 2002). Folglich müssen in die Analysen zukünftiger Studien die aufgenommenen Trinkwassermengen bzw. die Art des am häufigsten verzehrten Wassers miteinbezogen werden.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung zwar einen Zusammenhang zwischen der Färbung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr und der Entstehung von Inselautoimmunität sowie zwischen dem pH-Wert des Trinkwassers und der Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes, dennoch sind diese Assoziationen marginal.

#### **2.4.2 Risiko für die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes und die Trinkwasserqualität in Abhängigkeit des Wohnortes (Norddeutschland vs. Süddeutschland) innerhalb der BABYDIAB-Population bzw. der Nested Fall-Kontroll-Studie**

Weiterhin sollte im Rahmen dieser Arbeit geklärt werden, ob die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes und die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auch durch die geographische Lage beeinflusst wird. Da innerhalb Europas ein ausgeprägtes Nord-Südgefälle bezüglich der Inzidenzrate des Typ 1 Diabetes existiert (The DIAMOND Project Group 2006) und die BABYDIAB-Studie eine prospektive deutschlandweite Verlaufsuntersuchung bei Kindern mit einem diabetischen Elternteil ist, wurde hier die Entstehung von Inselautoimmunität und die Progression zum Typ 1 Diabetes und die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr differenziert nach Nord- und Süddeutschland (Bayern, Baden-Württemberg) innerhalb der BABYDIAB-Population bzw. Nested Fall-Kontroll-Studie untersucht.

Es konnten keine Unterschiede in der Entstehung von Inselautoimmunität und in der Progression zum Typ 1 Diabetes zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der BABYDIAB Population gefunden werden. Hier ist aber auch hinzuzufügen, dass die Einteilung in Nord- und Süddeutschland relativ ungenau war und die Fallzahl für diese Überprüfung zu klein war. Außerdem ist anzumerken, dass die Gesamtvertei-

lung der BABYDIAB-Population auf Nord- und Süddeutschland zu ungleichmäßig war (960 vs. 558). Ein deutschlandweites Diabetesregister ist nötig, um mögliche Unterschiede in der Typ 1 Diabetes Inzidenz zwischen Nord- und Süddeutschland aufzeigen zu können. Leider existieren zurzeit nur regionale Register in Baden-Württemberg, Sachsen und Nordrhein-Westfalen (Galler 2005, Neu 2002, Rosenbauer 2000). Obwohl keine Unterschiede in der Entstehung von Inselautoimmunität und in der Progression zum Typ 1 Diabetes zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der BABYDIAB Population beobachtet werden konnte, zeigte sich jedoch bezüglich der Trinkwasserqualität z. T. signifikante Unterschiede zwischen Nord- und Süddeutschland. Nach Korrektur für multiples Testen waren innerhalb der gesamten Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation die Parameter Färbung, Nitrit-, Eisen- und Mangankonzentrationen, innerhalb der Inselautoantikörper positiven Kinder die Parameter pH-Wert, Nitrit- und Mangankonzentrationen und innerhalb der Inselautoantikörper negativen Kinder die Parameter Färbung, Eisen- und Mangankonzentrationen signifikant höher in Norddeutschland als in Süddeutschland.

Eine genaue Interpretation der vorliegenden Ergebnisse ist ohne weitere Untersuchungen nicht möglich, da hier nur die geographische Einteilung der Wohnorte in Nord- und Süddeutschland erfolgte. Nitrat und Nitrit werden in der Landwirtschaft häufig als Dünger eingesetzt, dadurch kann Grundwasser in den ländlichen Gebieten oft mehr mit Nitrat belastet sein als in der Stadt (McKnight 1999). Unterschiede zwischen Stadt und ländlicher Gegend wurden aber hier nicht untersucht.

### 2.4.3 Ausblick

Umweltfaktoren scheinen eine essentielle Rolle in der Entstehung des Typ 1 Diabetes zu spielen, dennoch war es basierend auf den bisher durchgeführten Studien mit kontroversen Ergebnissen bisher schwierig einzelne Umweltfaktoren genau zu identifizieren. Dies ist bedingt durch die ungenaue Methodik dieser Studien (retrospektives Studiendesign, Recall Bias, fehlende Informationen über die Exposition gegenüber Umweltfaktoren in der frühen Kindheit, geringe Fallzahl, verschiedene Populationen, Nichtbeachtung von genetischen Risikofaktoren usw.). Auf der Grundlage der bisher publizierten Ergebnissen über den Zusammenhang von Umweltfaktoren und der Entstehung von Typ 1 Diabetes wird seit 2004 die internationale Beobachtungsstudie TEDDY (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young) durchgeführt, an der auch das Institut für Diabetesforschung als Studienzentrum beteiligt ist. Das Hauptziel ist es, bei Kindern mit einem erhöhten genetischen Typ 1 Diabetes Risiko Umweltfaktoren zu identifizieren, die zu Typ 1 Diabetes führen oder davor schützen. Die TEDDY Studie soll im Weiteren Aufschluss über die Bedeutung der Trinkwasserqualität an der Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes geben. Insgesamt beteiligen sich 6 Zentren aus 4 Ländern: Deutschland, Finnland, Schweden und USA (Georgia/Florida, Colorado, Washington). Im ersten Teil der Studie sollen weltweit über 350.000 Kinder aus der Allgemeinbevölkerung und über 5500 Kinder mit einem erstgradigen Verwandten mit Typ 1 Diabetes auf Risikogene in den ersten Lebensmonaten gescreent werden. Im zweiten Teil der Studie sollen insgesamt über 7000 Risikokinder aus der Allgemeinbevölkerung und fast 800 Risikokinder mit einem erstgradigen Verwandten mit Typ 1 Diabetes engmaschig nachuntersucht werden. Die Erhebung der Umweltfaktoren, wie Ernährung, Infektionen, Impfungen und psychische Belastungen sowie regelmäßige Blutuntersuchungen erfolgen bis zu einem Alter von 4 Jahren 3-monatlich und anschließend bis zum 15. Lebensjahr halbjährlich. Proben des am häufigsten verzehrten Wassers werden im Alter von 9 Monaten, 3, 5, 7, 9, 11, 13 und 15 Jahren von den Familien gesammelt.

### **3 Einfluss des mütterlichen Typ 1 Diabetes auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran**

#### **3.1 Hintergrund und Problemstellung**

Langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren (LC-PUFA) haben eine große Relevanz in der frühkindlichen Entwicklung. Als Bestandteile der Membranphospholipide von Neuronen und Photorezeptoren der Retina sind sie für deren Entwicklung intrauterin und perinatal von entscheidender Bedeutung (Koletzko 2001). Darüber hinaus wird vermutet, dass die Versorgung mit LC-PUFA EPA und DHA aber auch mit dem Risiko für Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes invers assoziiert ist (Norris 2007, Stene 2000, 2003). Daten über eine ausreichende Versorgung mit LC-PUFA in der frühen Kindheit von Kindern diabetischer Mütter sind noch nicht ausreichend verfügbar. Für die Ernährung eines gesunden Säuglings in den ersten Lebensmonaten ist Muttermilch die beste Quelle für die Bedarfsdeckung des Säuglings und für die Bereitstellung von langkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch unterscheidet sich erheblich von industriell gefertigten Formulanahrungen, da diese vor allem keine Docosahexaensäure enthalten (Koletzko 1999). Untersuchungen zur Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch berichten aber auch über Unterschiede in der Milchfettsäurezusammensetzung von Müttern mit Typ 1 Diabetes aufgrund der veränderten Stoffwechsellage. (Bitman 1989, Jackson 1994). Ein geeigneter Biomarker für die Fettsäureaufnahme mit der Nahrung ist die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran. (Fuhrman 2006, Farquhar 1963, Feunekes 1993, Glatz 1989, Godley 1996). Aufgrund ihrer Lebensdauer von 120 Tagen spiegeln sie die Ernährung von mehreren Monaten wieder (Arab 2002, 2003).

Da Kinder von Müttern mit Diabetes ein signifikant geringeres Risiko haben, Inselautoantikörper zu entwickeln oder an Typ 1 Diabetes zu erkranken als Kinder von Vätern mit Typ 1 Diabetes (Warram 1984, Bleich 1993, El-Hashimy 1995, Lorenzen 1998), soll in der vorliegenden Arbeit vor allem der Frage nachgegangen werden, ob die Ernährung im Hinblick auf die Fettsäurezufuhr zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes unterschiedlich ist. Hierzu wurde die Fettsäurezufuhr über die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran der an

der BABYDIÄT Studie teilnehmenden Kinder untersucht. Die BABYDIÄT-Studie ist eine Präventionsstudie zur Verhinderung des Typ 1 Diabetes durch Eliminierung von Gluten während des 1. Lebensjahres. Kinder mit einem erstgradigen Verwandten mit Typ 1 Diabetes und Typ 1 Diabetes-assoziiertem HLA-Risikogenotyp werden bis zu einem Alter von 3 Monaten eingeschlossen. Die Kinder werden in eine Kontroll- und Interventionsgruppe randomisiert (6 bzw. 12 Monate glutenfrei). Im Alter von 3, 12, 24 und 36 Monaten werden Blutproben zur Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran gesammelt und als Phosphatidylcholin- und Phosphatidylethanolaminfraktionen (PC, PE) erfasst.

Folgende Punkte sollten dabei genauer untersucht werden:

1. Welchen Einfluss hat der mütterliche Typ 1 Diabetes auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei Kindern mit einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko im Alter von 3 Monaten?
2. Welchen Einfluss hat das Voll Stillen in den ersten 3 Monaten, eine Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit, die Schwangerschaftsdauer und das Geburtsgewicht auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei Kindern mit einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko im Alter von 3 Monaten?
3. Unterscheidet sich die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran im Alter von 3 Monaten zwischen den Kindern mit einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko, die von einer Mutter mit Typ 1 Diabetes bzw. einer Mutter ohne Typ 1 Diabetes in den ersten 3 Monaten voll gestillt wurden?
4. Welchen Einfluss hat der mütterliche Typ 1 Diabetes sowie die Glutenintervention und die Gesamtstilldauer auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei Kindern mit einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko im Alter von 12 Monaten?



5. Welchen Einfluss hat der mütterliche Typ 1 Diabetes sowie die Glutenintervention auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei Kindern mit einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko im Alter von 24 Monaten?
  
6. Korreliert die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran mit den durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Aufnahme von Fettsäuren mit der Nahrung?

## 3.2 Methode

### 3.2.1 Die BABYDIÄT-Studie

Die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran wurde anhand des Kollektivs der BABYDIÄT-Studie untersucht.

Die BABYDIÄT-Studie ist eine Interventionsstudie, in der Neugeborene von Müttern oder Vätern bzw. Geschwistern mit Typ 1 Diabetes mit den Diabetes-Hochrisikogenotypen DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201/DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302; DRB1\*04-DQA1\*0301-BQB1\*0302/DRB1\*04-DQA1\*0301-DQB1\*0302 oder DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201/DRB1\*03-DQA1\*0501-DQB1\*0201 im Alter von maximal 3 Monaten eingeschlossen wurden. Die Rekrutierung fand von 2001 bis 2006 in ganz Deutschland statt. Ziel der BABYDIÄT-Studie ist, den Einfluss einer Ernährungsintervention, nämlich eine Verzögerung der Glutenexposition, auf die Entstehung von Inselautoimmunität bzw. die Entwicklung eines manifesten Typ 1 Diabetes zu untersuchen und durch die engmaschigen Nachuntersuchungen die Entstehung von Inselautoimmunität aufzuklären. Bei Geburt wurden aus Nabelschnurblut bzw. bis zum 3. Lebensmonat aus venösem Blut die HLA-Genotypen bestimmt. Als offene randomisierte kontrollierte Studie bekam die Hälfte der Kinder bis zum Alter von 12 Lebensmonaten eine glutenfreie Ernährung, die andere Hälfte erhielt glutenhaltige Nahrung ab dem 6. Lebensmonat (entspricht der allgemeinen Ernährungsempfehlung in Deutschland). Die Randomisierung wurde unter Einbeziehung des HLA-Genotyps, des Verwandtschaftsverhältnisses zum diabetischen Familienmitglied und des Geschlechts des Säuglings durchgeführt. Jede Familie wurde einmal, wenn das Kind ca. 3 Monate alt war, von einer Ökotrophologin vor Ort besucht, welche die glutenfreie Ernährung sowie das Ausfüllen von Wochenprotokollen und 3-Tages-Ernährungsprotokollen erklärte. Ferner wurde den Eltern Informationsmaterial über eine glutenfreie Ernährung und Listen von glutenfreien Produkten bereitgestellt. Ebenso wurde der Kinderarzt der Familie über die Studie aufgeklärt, da er die Blutentnahmen durchführt. Insgesamt wurden 149 Kinder in die Studie eingeschlossen und ab dem 3. Lebensmonat in 3-monatlichen Abständen bis zum dritten Lebensjahr mittels Blut-, Urin- und Stuhlproben nachuntersucht. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt werden die Blutproben auf Autoantikörper gegen Insulin (IAA), Glutamatdecarboxylase (GADA) und gegen die Tyrosinphosphatase (IA-2A) untersucht. Außerdem

werden Antikörpersubklassen, Epitope und Zöliakie-assoziierte Antikörper gegen die Gewebstransglutaminase C bestimmt. Virale oder bakterielle Erreger werden in den Blut-, Stuhl- und Urinproben erfasst. Des Weiteren wird mit Hilfe von 3-Tages Ernährungsprotokollen, Wochenprotokollen und Fragebögen die Ernährung der Kinder evaluiert. Stillgewohnheiten, Säuglingsmilchnahrungen, Einführung von neuen Nahrungsmitteln, Erkrankungen und Medikamente werden täglich in den Wochenprotokollen notiert.

Ein Endpunkt der BABYDIÄT-Studie ist die Entwicklung von Inselautoimmunität bzw. die klinische Manifestation eines Typ 1 Diabetes. Inselautoimmunität ist hier definiert als das Vorhandensein positiver Antikörper-Titer bei einem oder mehreren Inselautoantikörpern (IAA, GAGA, IA-2A) in mindestens 2 aufeinander folgenden Blutproben. Zur Bestätigung der Inselautoimmunität, d. h. von persistierenden Inselautoantikörpern wird eine 2. Blutprobe angefordert. Wird in einer 2. Blutprobe die Inselautoimmunität nicht bestätigt, gilt das Kind als Inselautoantikörper negativ. Ein weiterer Endpunkt ist das Auftreten von zöliakieassoziierten Antikörpern (Transglutaminase-Antikörper) sowie durch eine Biopsie nachgewiesene Zöliakie (Schmid 2004b).

Insgesamt wurden 1168 Neugeborene vor dem 3. Lebensmonat auf die HLA-DR und DQ Risikoallele untersucht, dabei wiesen 170 (14,5%) Säuglinge einen Diabetesrisikogenotyp auf. Von diesen 170 Kindern entschieden sich 149 (87,6%) Familien für die Teilnahme an der BABYDIÄT Studie. 73 Kinder wurden in die Interventionsgruppe und 76 Kinder in die Kontrollgruppe eingeteilt. Die Kinder wurden über einen mittleren Zeitraum von 16 Monaten (Zeitspanne 0-36 Monaten) nachbeobachtet. Glutenhaltige Nahrungsmittel wurden in der Interventionsgruppe mit 11,7 Monaten und bei der Kontrollgruppe mit 6,9 Monaten eingeführt. 11 Familien (7%) haben die Teilnahme an der BABYDIÄT-Studie vorzeitig abgebrochen (durchschnittliches Alter bei drop out: 0,7 Jahre). Die engmaschigen Nachuntersuchungen bis zum 3. Lebensjahr sind bei 41 Kindern abgeschlossen und in ca. 2,5 Jahren werden sie dann bei allen Kindern beendet sein. Nach dem 3. Lebensjahr werden die Kinder hinsichtlich der Entwicklung der Endpunkt weiter beobachtet.

Die BABYDIÄT-Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilian-Universität München, Deutschland genehmigt (Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität Nr. 329/00).

### **3.2.2 Kollektiv aus der BABYDIÄT-Studie für die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran**

Seit März wurden 2003 bei den Kindern der BABYDIÄT-Studie im Alter von 3, 12, 24 und 36 Monaten jeweils mindestens 1,5 ml venöses Blut im EDTA-Röhrchen für die Analyse der Fettsäurezusammensetzung in der Erythrozytenmembran gesammelt. Bis November 2005 standen von den 112 in die Babydiät-Studie eingeschlossenen Kindern 145 Blutproben für die Analyse zur Verfügung.

#### **Beschreibung der Studienpopulation**

Von 48 Kindern lag jeweils eine Blutprobe zur Analyse im Alter von 3 Monaten vor: 23 Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes, 25 Kinder von Müttern ohne Typ 1 Diabetes (Tab. 11). 27 dieser Kinder wurden in den ersten 3 Monaten voll gestillt: 10 Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes und 17 Kinder von Müttern ohne Typ 1 Diabetes. Die anderen 21 Kinder erhielten in den ersten 3 Monaten nur Formulanahrung oder wurden noch zusätzlich teilgestillt. Informationen über eine Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft und/oder der Stillzeit standen von 19 Müttern mit Typ 1 Diabetes und von 23 Müttern ohne Typ 1 Diabetes zur Verfügung, 7 Mütter mit Typ 1 Diabetes und 6 Mütter ohne Typ 1 Diabetes nahmen Fischölsupplemente während der Schwangerschaft und/oder der Stillzeit ein.

Informationen über die Schwangerschaftsdauer und das Geburtsgewicht lagen bei allen 25 Müttern mit Typ 1 Diabetes und bei allen 24 Müttern ohne Typ 1 Diabetes vor. Der Median der Schwangerschaftsdauer betrug bei den Müttern mit Typ 1 Diabetes 38 Wochen und 39,5 Wochen bei Müttern ohne Typ 1 Diabetes. In beiden Gruppen wurde jeweils ein Kind als Frühgeburt, d. h. vor der 37. Schwangerschaftswoche geboren. Bei Kindern von Müttern mit Typ 1 Diabetes lag die eine mittlere Geburtsgewichtperzentile bei 81, während diese bei Kindern von nicht diabetischen Müttern 56,5 betrug.

Im Alter von 12 Monaten konnten von 49 Kindern Blutproben gesammelt werden, davon hatten 25 Kinder eine Mutter mit Typ 1 Diabetes und 24 Kindern eine nicht diabetische Mutter. 10 Kinder mit einer diabetischen Mutter und 12 Kinder ohne diabetische Mutter waren in der Interventionsgruppe. Die mittlere Gesamtstilldauer

betrug 18,5 Wochen bei den Kindern von Müttern mit Typ 1 Diabetes und 41,3 Wochen bei den Kindern von nicht diabetischen Müttern.

Im Alter von 24 Monaten konnten bei 32 Kindern Blutproben gesammelt werden, davon hatten 19 Kinder hatten eine Mutter mit Typ 1 Diabetes und 13 Kinder hatten eine Mutter ohne Typ 1 Diabetes. 9 Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes und 8 Kinder von Müttern ohne Typ 1 Diabetes waren in der Interventionsgruppe.

Im Alter von 36 Monaten konnten von 16 Kindern Blutproben gesammelt werden: 10 Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes und 6 Kindern von nicht diabetischen Müttern. (Tab. 11).

**Tab. 11:** Beschreibung der Untersuchungspopulation

	Mutter mit T1D	Mutter ohne T1D	Gesamt
<b>Alter: 3 Monate</b>	23	25	<b>48</b>
Vollstillen (n)	10	17	27
Fischölsupplementierung (n)	7	6	13
Median Schwangerschaftsdauer (Wochen)	38	39,5	39
Frühgeborene (n)	1	1	2
Median Geburtsgewichtperzentile	81	56,5	69
<b>Alter: 12 Monate</b>	25	24	<b>49</b>
Interventions- /Kontrollgruppe	10/15	12/12	22/27
Median Gesamtstillen (Wochen)	18,5	41,25	30,25
<b>Alter: 24 Monate</b>	19	13	<b>32</b>
Interventions- /Kontrollgruppe	9/10	8/5	17/15
<b>Alter: 36 Monate</b>	10	6	<b>16</b>

Randomisierung in die Kontroll- oder Interventionsgruppe erfolgt nach dem 3. Lebensmonat; in den Analysen erfolgte bei 12 und 24 Monaten jeweils eine Korrektur für die Glutenintervention

### 3.2.3 Probensammlung und -verarbeitung

Die Blutentnahme erfolgte durch den eigenen Kinderarzt vor Ort. Die Blutproben wurden per Express Service innerhalb von 24 h an das Institut für Diabetesforschung in München geschickt. Hier wurden die Proben zunächst bis zur weiteren Aufarbeitung vorbereitet und eingefroren.

#### *Vorbereitung der Proben:*

EDTA-Blut wurde bei 3000 rpm 10 min zentrifugiert und anschließend das Plasma abpipettiert. Danach wurden die Erythrozyten 3mal mit der 10-fachen Menge an 0,9% NaCl gewaschen.

#### *Einfrieren der Proben:*

Auf das Erythrozytensediment wurde zum Hämolysieren je nach Erythrozytenmenge ca. 1 ml aqua dest hinzu gegeben und dann 2 ml Isopropanol + Butylhydroxitoluol (50 mg/l) unter ständigem Schütteln langsam zugegeben. Die Probe wurde bei  $-80^{\circ}\text{C}$  bis zur Weiterverarbeitung gelagert.

### **3.2.4 Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran der BABYDIÄT Kinder**

Die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran wurde im Stoffwechsellabor des Dr. von Haunerschen Kinderspitals in München von der Doktorandin durchgeführt (Geppert 2005). Hierzu wurden die eingefrorenen Proben am Tag der Weiterverarbeitung ins Stoffwechsellabor transportiert, dort aufgetaut und analysiert.

#### **Extraktion:**

Die aufgetaute Probe wurde in ein 25 ml Zentrifugengläschen vollständig überführt. Unter ständigem Schütteln unter Zuhilfenahme eines Vortexers wurden 6 ml Isopropanol und 4 ml Chloroform zugegeben. Daraufhin wurde die Probe bei wiederholtem Schütteln 10 Minuten stehen gelassen und anschließend bei 3000 rpm 10 min zentrifugiert und der Überstand durch einen mit Chloroform angefeuchteten Filter in einen Spitzkolben filtriert. Im zweiten Extraktionsschritt wurde erneut 4 ml Chloroform unter ständigem Schütteln zur Probe gegeben, und die Probe wurde bei wiederholtem Schütteln stehen gelassen und anschließend in den Spitzkolben filtriert. Zentrifugengläschen und Filter wurden anschließend mit je 2 ml Chloroform nachgewaschen. Diese Extraktionsmethode entspricht in modifizierter Form der von Folch 1957 vorgeschlagenen Extraktion mit Chloroform unter Verwendung eines polaren Lösungsmittels. Die Probe wurde dann mit dem Rotationsverdampfer unter reduziertem Druck bei 35 °C bis zur Trockne gebracht.

#### **Dünnschichtchromatographie, Isolierung der Phosphatidylcholin-Fraktion und Phosphatidylethanolamin-Fraktion:**

Als Laufmittel wurde ein Gemisch aus Chloroform : Methanol : NH<sub>3</sub> (25%) : Aqua dest (73 ml : 27 ml : 2,2 ml : 2,8 ml) verwendet und 30 min vor der Dünnschichtchromatographie in die Entwicklungskammer gegeben, zusätzlich wurde eine Seite der Kammer mit Filterpapier belegt, um eine gleichmäßige Sättigung des Gasraumes über dem Laufmittel zu erzielen. Das getrocknete Lipidextrakt wurde in 400 µl eines Gemisches von Chloroform/Methanol (1/1, v/v) aufgenommen und auf eine Dünnschichtplatte aufgetragen. Die Auftragstelle wurde zweimal mit 90 µl Chloroform nachgewaschen. Die Platte wurde anschließend in die Entwicklungskammer gege-

ben und wurde ca. 90 min bis zu einer Laufhöhe von 1 cm unterhalb des oberen Randes entwickelt, dadurch wurden die Phospholipide von den freien Fettsäuren, Triglyceriden und Cholesterinestern getrennt. Danach wurde die Platte bei Raumtemperatur ca. 15 min getrocknet. Die Lipidfraktionen wurden unter einer UV-Lampe nach Besprühen mit 2,7 Dichlorfluorescein identifiziert. Die entsprechenden Stellen mit Fluoreszenz-Markierung für die Phosphatidylcholin-Fraktion und die Phosphatidylethanolamin-Fraktion wurden mit einem Spatel ausgekratzt und mit Hilfe eines DIN A4 Blattes sowie eines Trichters in ein 4 ml Braunglasfläschen überführt.

### ***Synthese der Fettsäuremethylester:***

Die gewonnenen Lipidfraktionen wurden mit 1 ml methanolischer HCl versetzt und bei 85 °C für 45 Minuten im Thermoblock erhitzt.

### ***Extraktion der Fettsäuremethylester:***

Nach einer 30minütigen Abkühlungsphase wurde der Ansatz mit folgender Puffermischung: Natriumsulfat/Natriumhydrogencarbonat/Natriumcarbonat (2/2/1, wt/wt/wt) neutralisiert und anschließend zweimal mit jeweils 1 ml Hexan extrahiert. Nach der Zugabe von Hexan wurde die Probe jeweils 4 min bei 2300 rpm zentrifugiert und die obere Hexanphase in ein 2 ml Braungläschen gegeben und unter Stickstoff eingedampft.

### ***Aufnahme des Extraktes:***

Die aufkonzentrierte Probe wurde anschließend in 50 µl Hexan mit BHT (2 g/l) aufgenommen, mit Hilfe eines Vortexers gut geschüttelt und in ein Microvial überführt. Das Vial wurde in das 2 ml Braunglas gegeben und dieses mit einer Bördelkappe gut verschlossen. Die Probe wurde bis zur GC-Analytik bei –20 °C aufbewahrt.

### ***Gaschromatographie:***

Zur Analyse der Fettsäuremethylester diente ein Gaschromatograph Modell HP 5890 Serie II. Zur quantitativen Detektion kam ein Flammenionisationsdetektor (FID) zum Einsatz. Vor der Analyse wurde zum Kalibrieren ein Gemisch mit bekannten Fettsäurekonzentrationen (GLC-85, Nu-Chek-Prep Inc., Elysian, Minnesota, USA) gemessen und ausgewertet. Ein Probenvolumen von 3 µl wurde bei einer Injektortemperatur von 110 °C eingespritzt, die anschließend bei 50 °C/Minute auf 250 °C



erhöht wurde. Die Temperatur des Detektors betrug 300°C. Wasserstoff wurde als Trägergas verwendet und zur Trennung der einzelnen Fettsäuremethylester diente eine Kapillarsäule (BPX70, SGE, Weiterstadt, Deutschland) mit einem Innendurchmesser von 0,32 mm und einer Länge von 60 m. Die Temperatur des Säulenofens wurde zuerst von 130°C (Anfangstemperatur) bei 3°C/Minute auf 180°C erhöht und anschließend bei 1,5°C/Minute auf 200°C erhöht und schließlich bei 7°C/Minute auf 210°C erwärmt (Tab. 12). Über einen Integrator wurden die Signale des Detektors aufgezeichnet.

Die Fettsäuremethylester wurden durch den Vergleich der Retentionszeiten mit denen eines bekannten Standards [Nu-Chek (Elysian, Minnesota, USA) und Sigma (Taufkirchen, Deutschland)] identifiziert. Für die Quantifizierung der Fettsäuren wurden Response Faktoren durch Analyse eines Gemisches mit bekannten Fettsäurekonzentrationen (GLC-85, Nu-Chek-Prep Inc., Elysian, Minnesota, USA) ermittelt. Es wurde die Auswertungssoftware Easy Chrome Elite 2.61 (Scientific Software, Pleasanton, CA) verwendet (Abb. 12).

**Tab. 12:** GC Programm für die Fettsäureanalyse

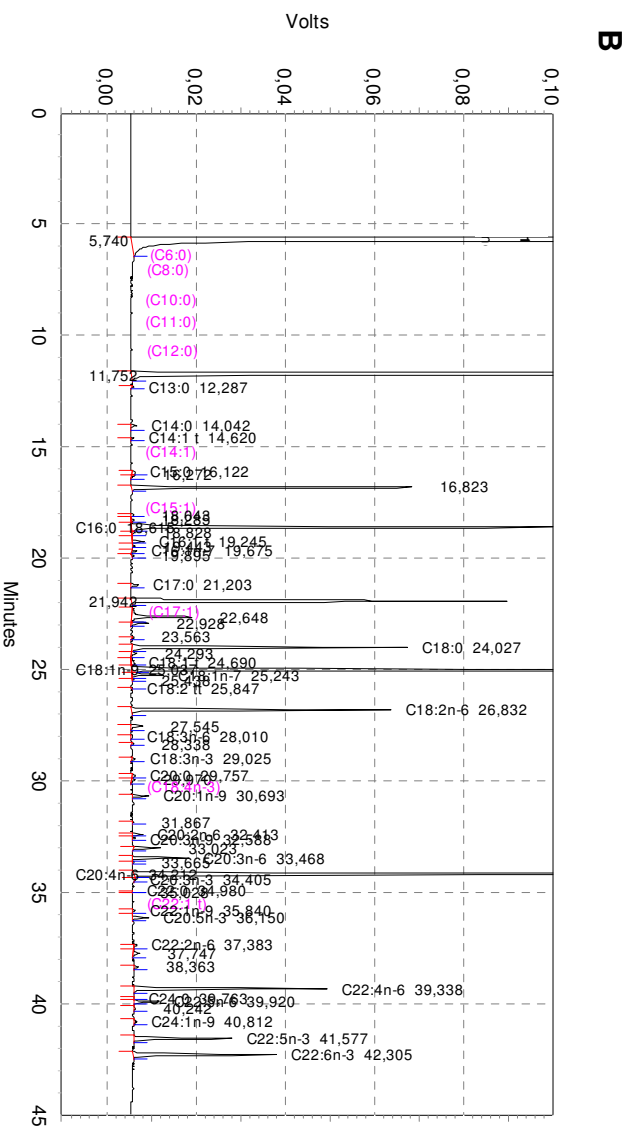
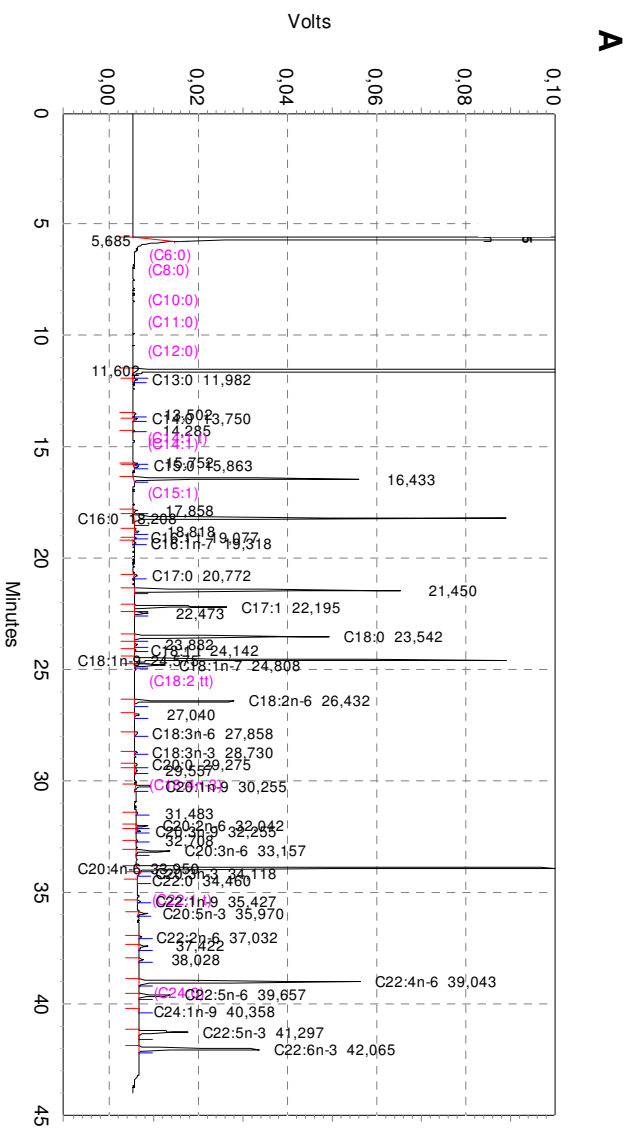
<b>Ofen</b>	
Anfangstemperatur	130°C
Anfangszeit	0,5 min
Rate	3,0°C/min
Endtemperatur	150°C
<i>Rate A</i>	1,5°C/min
Endtemperatur	180°C
<i>Rate B</i>	3,0°C/min
Endtemperatur	210°C
Zeit bis zum Ende	23 min
<b>Druck</b>	
Anfangsdruck	1,10 bar
Rate	0,025 bar/min
Enddruck	1,8
Zeit bis zum Ende	40 min
<b>Injektor / Detektor</b>	
Injektor Temperatur	250°C
Detektor Temperatur	300°C

Folgende Fettsäuren wurden ausgewertet:

**SFA:** 14:0, 15:0, 16:0, 17:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0

**MUFA:** 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7, 20:1n-9, 22:1n-9, 24:1n-9

**PUFA:** 18:2n-6, 18:3n-6, 18:3n-3, 18:4n-3, 20:2n-6, 20:3n-9, 20:3n-6, 20:4n-6, 20:3n-3, 20:5n-3, 22:2n-6, 22:4n-6, 22:5n-6, 22:5n-3, 22:6n-3.



**Abb.12:** Chromatogramm der Fettsäurezusammensetzung von PE (A) und PC (B) in der Erythrozytenmembran einer analysierten Probe

In den Tabellen 13-15 sind die verwendeten Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Gebrauchsgegenstände/Geräte aufgeführt.

**Tab. 13:** Chemikalien

<b>Chemikalien</b>	<b>Hersteller</b>
Ammoniaklösung 25% pro analysi	Merck, Darmstadt
Aqua ad iniectiones	B. Braun, Melsungen
Chloroform reinst	Merck, Darmstadt
DC-Platten 20x20 cm Kieselgel 60	Merck, Darmstadt
2,7 Dichlorfluorescein	Merck, Darmstadt
2,6 Di-tert. butyl-p-kresol (BHT)	Sigma, Deisenhofen
2,6 Di-tert. butyl-p-kresol (BHT)	Fluka, Buchs, Schweiz
Ethanol absolut	Merck, Darmstadt
n-Hexan pro analysi	Merck, Darmstadt
Methanol reinst	Merck, Darmstadt
Methanolische HCL (3N)	Supelco, Bellefonte, USA
Natriumcarbonat pro analysi	Merck, Darmstadt
0,9%ige NaCl-Lösung	B. Braun, Melsungen
Natriumhydrogencarbonat pro analysi	Merck, Darmstadt
Natriumsulfat pro analysi	Merck, Darmstadt
2-Propanol pro analysi	Merck, Darmstadt

**Tab. 14:** Verbrauchsmaterialien

<b>Verbrauchsmaterialien</b>	<b>Hersteller</b>
Bördelkappe R11-1.0	CS-Chromatographie Service, Langenwehe
Braunglasfläschen R1, G4	CS-Chromatographie Service, Langenwehe
Dichtscheibe G13	CS-Chromatographie Service, Langenwehe
DC-Platten; Kieselgel 60	Merck, Darmstadt
Filterpapier Grade 388	Sartorius, Göttingen
Mikroglaseinsätze G30/6 mit Polymerfuß	CS-Chromatographie Service, Langenwehe
Pipettenspitzen 50-1000	Brand, Wertheim
Pipettenspitzen 2-200µl; 50-1000µl; 500-2500µl	Eppendorf, Hamburg
Polycarbonatröhrchen 12ml	Sarstedt, Nümbrecht
Schraubkappe G 13	CS-Chromatographie Service, Langenwehe

**Tab. 15:** Gebrauchsgegenstände und Geräte

Geräte	Hersteller
Entwicklungskammer	Desaga, Heidelberg
Einhals-Spitzkolben 50 ml	Brand, Wertheim
Membran-Vakuumpumpe MZ 2c	Vacuubrand, Wertheim
Messzylinder 100 ml	Brand, Wertheim
Metallblock-Termostat Typ 2102	Bachofer, Reutlingen
Pipette 10-100 $\mu$ l, 100-1000 $\mu$ l	Brand, Wertheim
Pipette 50-250 $\mu$ l, 200-1000 $\mu$ l, 500-2500 $\mu$ l	Eppendorf, Hamburg
Rotor Büchi Rotorvapor R-114	Büchi Labortechnik, Flawil, Schweiz
Stickstoffabdampfvorrichtung Typ 5000 6101	Bachofer, Reutlingen
Trichter D35mm, D55mm	Duran Schott, Mainz
UV-Lampe	Benda Laborgeräte und UV-Strahler, Wiesloch
Vortexer VF2	Janke u. Kunkel IKA-Labortechnik, Heitersheim
Waage	Mettler, Gießen
Wasserbad, Büchi Waterbath B-480	Büchi-Labortechnik, Flawil, Schweiz
Zentrifugengläschen 25 ml	Schmitz, München
Zentrifuge Universal	Hettich, Tuttlingen
Zentrifuge Beckmann GPRCentrifuge	Beckmann, Bucks, UK
Autosampler HP HP7673	Hewlett Packard, Böblingen
Kapillarsäule BPX-70 (60m x 0,32 mm)	SGE Weiterstadt
Controller HP7673	Hewlett Packard, Böblingen
Gaschromatograph HP 5890 Serie II	Hewlett Packard, Böblingen
Integrator HP 3396 Serie II	Hewlett Packard, Böblingen

### 3.2.5 Berechnung des Fettsäuregehaltes

Die genaue Fettsäurekonzentration in den Phospholipiden PE und PC konnte nicht berechnet werden, da kein interner Standard verwendet wurde und das analysierte Erythrozytenvolumen nicht genau bekannt war. Somit wurden die prozentualen Gewichtsanteile der einzelnen Fettsäuren kalkuliert. Hierzu wurde die Peakfläche jeder Fettsäure durch die Summe aller Peakflächen der Fettsäuren C14-C24 dividiert und das Ergebnis mit 100 multipliziert.

$$\text{Fettsäure (wt\%)} = \frac{\text{Fettsäure (Peakfläche)}}{\text{Summe aller identifizierten C14 – C24 Fettsäuren (Peakfläche)}} \times 100$$

Zusätzlich wurden für jede Probe die Summe der gesamten SFA, der gesamten MUFA, der gesamten n-3 PUFA und der gesamten n-6 PUFA ermittelt.

### 3.2.6 Reproduzierbarkeit der durchgeführten Analysen

Vor der Analyse der Blutproben der Studienpopulation wurde ein Probenpool an Erythrozyten einer Kontrollperson angelegt. Hierzu wurde ebenfalls Blut in EDTA-Röhrchen gesammelt, aliquotiert und wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben verarbeitet und bis zur Analyse eingefroren. Der Intraassay Variationskoeffizient wurde durch Bestimmung einer Kontrollprobe zu jedem Analysendurchlauf bestimmt (pro Analyse: 7 Proben + 1 Kontrollprobe). Insgesamt wurden 20 Kontrollproben analysiert.

### 3.2.7 Dokumentation der Ernährung

#### *Wochenprotokolle Ernährung Kind*

Die Familien werden angehalten täglich folgende Lebensmittelgruppen anzukreuzen, aus denen das Kind an dem entsprechenden Tag gegessen hatte: Muttermilch, Formulanahrungen, Industrielle Breimahlzeiten, glutenhaltiges Getreide, glutenfreies

Getreide, Kartoffeln, Gemüse, Obst, Fleisch, Fisch, Eier, Sojaprodukte, Milchprodukte und Süßigkeiten: Es sollen dabei nicht die verzehrten Mengen angegeben werden. Diese Wochenprotokolle sollen ab dem 3. Lebensmonat bis zum Alter von 1,5 Jahren geführt werden.

#### *Wochenprotokolle Ernährung der stillenden Mutter*

Stillende Mütter werden gebeten während der gesamten Stillzeit täglich den eventuellen Verzehr von Fisch und Fischölkapseln zu protokollieren. Dabei soll der Fischverzehr nach Fischarten mit hohem und niedrigem Fettgehalt angekreuzt werden.

#### *3-Tages-Ernährungsprotokolle*

Die Eltern der Kinder werden gebeten ein 3-Tages-Ernährungsprotokoll ihres Kindes an 3 aufeinander folgenden Tagen zu führen, wenn das Kind 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 und 36 Monate alt ist. Dabei sollen alle verzehrten Lebensmittel, Getränke, Vitamin-/Mineralstoffpräparate und Medikamente an diesen Tagen notiert werden. Weiterhin wird Ort und Zeitpunkt der Mahlzeit protokolliert. Alle verzehrten Lebensmittel und Getränke sollen gewogen bzw. abgemessen werden. Die Zutaten beim Kochen und Backen sollen ebenfalls gewogen und notiert und die Zubereitungsart (braten, kochen) angegeben werden. Die Reste sollen auch beschrieben werden, z. B. Rest nur aus Kartoffeln, nicht verzehrte Fettränder. Ferner werden die Familien angehalten, die Produktnamen und den Hersteller und Produktangaben (Brotsorte, Fettgehalt Milchprodukte, Typenzahl Mehl, Obstsorte usw.) zu protokollieren und auch die Verpackungen und Banderolen aufzuheben und mit dem Ernährungsprotokoll zuschicken. Bei Mahlzeiten außer Haus sollen die verzehrten Mengen möglichst in Haushaltsmaßen (Tasse, Esslöffel) und haushaltsüblichen Einheiten (Scheibe, Stückzahl) angegeben werden.

Die 3-Tages-Ernährungsprotokolle werden am Forschungsinstitut für Kinderernährung (FKE) in Dortmund in die Lebensmittel- und Nährwertdatenbank LEHTAB eingegeben und analysiert. Fett werden als Gesamtfett, gesättigte Fettsäuren, einfach ungesättigte Fettsäuren, mehrfach ungesättigte Fettsäuren und Linolsäure in g/Tag ausgewertet. Aufgrund der meist unzureichenden Kennzeichnung von Säuglingsprodukten und Fertiggerichten konnte keine Auftrennung bezüglich n-3- und n-6 Fettsäuren vorgenommen werden. Die einfach ungesättigten Fettsäuren werden aus der Differenz von Gesamtfett und den gesättigten und mehrfach ungesättigten Fett-

säuren berechnet. Insgesamt wurden 53 3-Tages-Ernährungsprotokolle von den Familien zu den dazugehörigen 145 Blutproben angefertigt und am Forschungsinstitut für Kinderernährung in Dortmund ausgewertet (Tab. 16).

**Tab. 16:** Anzahl der ausgewerteten 3-Tages-Ernährungsprotokolle in Abhängigkeit vom Alter des Kindes

Alter in Monaten	Kontrollgruppe	Interventionsgruppe	Gesamt
3	16	18	34
12	6	4	10
24	5	3	8
36	1	0	1
	Gesamt	—————→	53

### Fragebögen

Da die Familien erst besucht werden, wenn das Kind ca. 3 Monate alt ist, wird die Ernährung des Kindes in den ersten 3 Lebensmonaten anhand eines Fragebogens erhoben. Hier wird nach dem Stillverhalten, Formulanahrungen, eventuelle Beikost-einführung und Vitamin-/Mineralstoffpräparate gefragt.

Informationen über eine Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft wurde anhand eine Fragebogens bei Geburt erfasst.

### 3.2.8 Definitionen

#### **Vollstillen:**

Gemäß den WHO Kriterien (WHO 1991) wurde Stillen als Vollstillen definiert, wenn die Kinder Muttermilch mit oder ohne zusätzliche Gabe von Wasser oder Getränken auf Wasserbasis, Vitamine und Medikamente aber keine Formulanahrung, Milch oder Beikost erhielten.

### **Geburtsgewicht und Schwangerschaftsdauer:**

Angaben über Geburtsgewicht und Schwangerschaftsdauer wurde anhand des Untersuchungsheftes der Kinder erfasst. Die Schwangerschaftsdauer (in Wochen) wurde ab dem ersten Tag der letzten Menstruation berechnet. Das Geburtsgewicht wurde für das Geschlecht des Kindes und für die Schwangerschaftsdauer korrigiert und als Perzentile der Referenzpopulation, ermittelt durch das German Perinatal Registry, angegeben (Voigt 1996).

### **3.2.9 Statistik**

Die statistischen Auswertungen wurden unter Verwendung des Softwarepaketes SPSS, Version 13.0 durchgeführt.

Die Ergebnisse der Fettsäureanalyse sind bei den normalverteilten Variablen als Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwertes der prozentualen Gewichtsanteile aller detektierbaren Fettsäuren (C14-C24) und bei den nicht normalverteilten Variablen als Median mit Interquartilem Range (25.-75. Perzentile) angegeben.

Die Überprüfung der Daten auf Normalverteilung wurde anhand des Kolmogorov-Smirnov-Tests (mit Lilliefors Korrektur) durchgeführt. Die Signifikanzen wurden dann entweder über den T-Test für normal verteilte Variablen oder über den Mann-Whitney-U Test für nicht normal verteilten Variablen berechnet.

Die Korrektur für die Variablen Interventionsgruppe (Gluten mit 12 Monaten), Stillen, Schwangerschaftsdauer, Geburtsgewicht und Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit (ja, nein) erfolgte durch eine multivariate Analyse (allgemeines lineares Modell).

Die Korrektur für multiples Testen erfolgte nach der Bonferroni Methode.

Die Korrelation zwischen der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran und den durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Aufnahme von Fettsäuren mit der Nahrung wurde anhand des Korrelationskoeffizienten nach



Sperman-Rho ausgewertet. Da die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran als Gewichtsprozent analysiert wurde, wurde die Aufnahme der gesättigten Fettsäuren, einfach ungesättigten Fettsäuren, mehrfach ungesättigten Fettsäuren und der Linolsäure mit der Nahrung ebenfalls in Prozente der Gesamtfettaufnahme umgerechnet.

Für alle Analysen wurde ein p-Wert von  $< 0,05$  als signifikant eingestuft.

### 3.3 Ergebnisse

#### 3.3.1 Reproduzierbarkeit der durchgeführten Analysen

Die Analyse der 20 Kontrollproben zeigte eine gute Reproduzierbarkeit der verwendeten Methode zur Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran. Der Intraassay Variationskoeffizient lag bei den meisten Fettsäuren < 5% (Tab. 17).

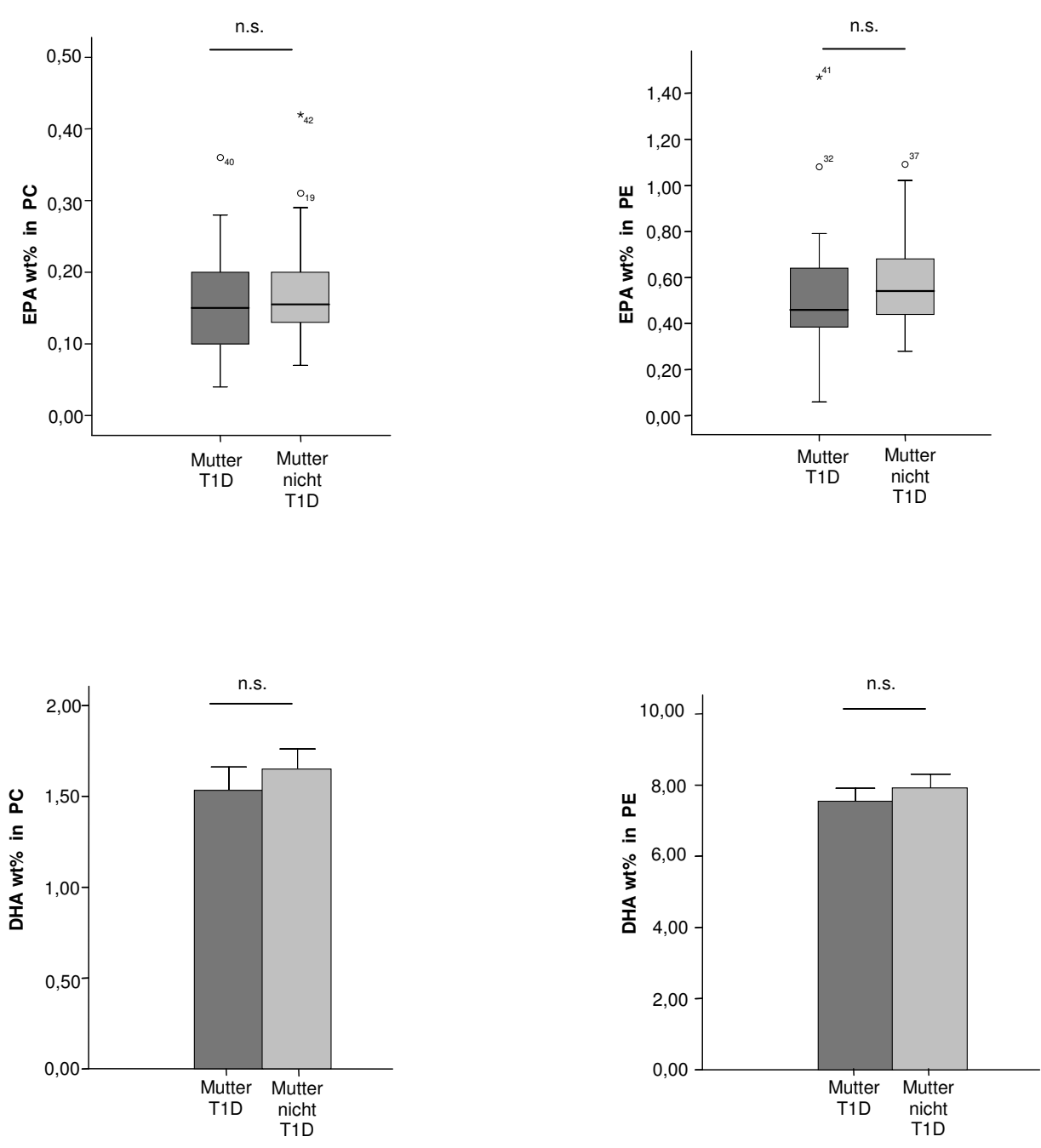
**Tab. 17:** Intraassay Variationskoeffizient der analysierten Fettsäuren

	<b>PC</b> <b>n=20</b> <b>VK%</b>	<b>PE</b> <b>n=20</b> <b>VK%</b>
<b>SFA</b>		
C14:0	2,76	6,02
C16:0	3,45	5,45
C18:0	1,62	3,54
C20:0	4,48	4,23
C22:0	4,99	4,96
C24:0	8,23	9,65
<b>MUFA</b>		
C16:1 n-7	2,23	3,45
C18:1 n-9	3,87	4,86
C18:1 n-7	1,68	6,32
C20:1 n-9	4,65	4,82
C22:1 n-9	5,53	3,53
C24:1 n-9	9,36	15,23
<b>n-9 PUFA</b>		
C20:3 n-9	4,69	4,22
<b>n-6 PUFA</b>		
C18:2 n-6	2,63	3,82
C18:3 n-6	4,63	4,91
C20:2 n-6	5,01	1,69
C20:3 n-6	3,58	5,78
C20:4 n-6	4,12	3,64
C22:2 n-6	4,39	1,52
C22:4 n-6	7,93	8,45
C22:5 n-6	4,63	5,45
<b>n-3 PUFA</b>		
C18:3 n-3	4,02	7,25
C20:3 n-3	1,89	4,82
C20:5 n-3	3,78	4,75
C22:5 n-3	4,82	2,59
C22:6 n-3	5,64	4,19

### 3.3.2 Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran bei Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 3 Monaten

Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes hatten im Alter von 3 Monaten einen signifikant höheren prozentualen Anteil der gesättigten Fettsäuren 16:0 in der PC und PE Fraktion der Erythrozytenmembran als Kinder von nicht diabetischen Müttern [PC: 16:0:  $35,45 \pm 0,35$  vs.  $33,89 \pm 0,26$ ,  $p_{\text{koriert}}=0,005$ , PE:  $15,77$  ( $14,70 - 16,94$ ) vs.  $15,22$  ( $14,09 - 15,63$ ),  $p_{\text{koriert}}=0,05$  Tab. 18]. Der prozentuale Anteil der n-3 PUFA 22:5 in der PC Fraktion war signifikant niedriger bei den Kindern von Müttern mit Typ 1 Diabetes im Vergleich zu den Kindern von nicht diabetischen Müttern [ $0,36 \pm 0,03$  vs.  $0,46 \pm 0,02$ ,  $p_{\text{koriert}}=0,025$ , Tab. 18]. EPA und DHA waren zwar tendenziell niedriger bei den Kindern von diabetischen Müttern als bei Kindern von nicht diabetischen Müttern, dieses Ergebnis war aber nicht signifikant [PC: EPA  $0,15$  ( $0,10 - 0,21$ ) vs.  $0,16$  ( $0,13 - 0,22$ );  $p_{\text{koriert}}=0,153$ ; DHA  $1,53 \pm 0,13$  vs.  $1,65 \pm 0,11$ ;  $p_{\text{koriert}}=0,496$ ; PE: EPA  $0,46$  ( $0,37 - 0,64$ ) vs.  $0,54$  ( $0,44 - 0,73$ );  $p_{\text{koriert}}=0,312$ , DHA  $7,54 \pm 0,37$  vs.  $7,92 \pm 0,38$ ;  $p_{\text{koriert}}=0,486$ , Tab. 18, Abb. 13].

Auch die Fettsäuregruppen SFA, MUFA und PUFA haben sich nicht zwischen den beiden Gruppen unterschieden (Tab. 18). Die prozentualen Anteile der gesamten n-6 PUFA, n-3 PUFA und n-3 bzw. n-6 LC-PUFA waren zwar etwas geringer bei den Kindern von Müttern mit Typ 1 Diabetes im Vergleich zu den Kindern von nicht diabetischen Müttern, dieser Unterschied war aber nicht signifikant. Weiterhin hat sich auch der Quotient n-6/n-3 Fettsäuren nicht zwischen den Gruppen unterschieden ( $p_{\text{koriert}}>0,05$ ), Tab. 18.



**Abb. 13:** Vergleich der prozentualen Anteile von EPA und DHA in PE und PC im Alter von 3 Monaten zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes

**Tab. 18:** Fettsäurezusammensetzung der Phospholipidfraktionen der Erythrozytenmembran der 3 Monate alten Kinder von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes (Gewichtsprozente, Mittelwert  $\pm$  SEM bzw. Median mit IQR)

	PC		PE	
	Mutter mit T1D n=23	Mutter ohne T1D n=25	Mutter mit T1D n=23	Mutter ohne T1D n=25
<b>SFA</b>				
C14:0	0,54 $\pm$ 0,05	0,40 $\pm$ 0,03	0,19 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,02
C16:0	35,45 $\pm$ 0,35 *	33,89 $\pm$ 0,26*	15,77 (14,70 - 19,94)*	15,22 (14,09 - 16,63)*
C18:0	11,75 (11,21 - 12,73)	12,95 (11,82 - 13,46)	8,85 $\pm$ 0,23	8,95 $\pm$ 0,17
C20:0	0,20 (0,15 - 0,23)	0,17 (0,15 - 0,22)	0,12 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01
C22:0	0,10 $\pm$ 0,02	0,12 $\pm$ 0,02	0,01 (0,01 - 0,03)	0,01 (0,01 - 0,03)
C24:0	0,13 (0,11 - 0,23)	0,13 (0,09 - 0,59)	0,01 (0,00 - 0,02)	0,01 (0,01 - 0,03)
<b>Gesamt</b>	48,15 (47,13 - 49,51)	47,77 (46,99 - 48,04)	24,33 (23,34 - 27,39)	24,38 (23,22 - 25,10)
<b>MUFA</b>				
C16:1 n-7	0,33 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01	0,13 $\pm$ 0,01
C18:1 n-9	18,17 (17,24 - 18,84)	17,53 (16,42 - 18,73)	16,58 (15,38 - 19,19)	15,67 (14,70 - 16,19)
C18:1 n-7	2,20 $\pm$ 0,06	2,09 $\pm$ 0,06	1,27 $\pm$ 0,04	1,16 $\pm$ 0,03
C20:1 n-9	0,41 (0,34 - 0,62)	0,38 (0,32 - 0,49)	0,51 (0,46 - 0,69)	0,49 (0,41 - 0,54)
C22:1 n-9	0,06 (0,05 - 0,09)	0,06 (0,05 - 0,08)	0,06 (0,05 - 0,10)	0,06 (0,05 - 0,08)
C24:1 n-9	0,27 (0,20 - 0,48)	0,27 (0,18 - 0,53)	0,04 (0,03 - 0,15)	0,03 (0,02 - 0,07)
<b>Gesamt</b>	21,62 (20,70 - 22,52)	20,78 (19,85 - 22,03)	18,71 (17,27 - 21,11)	17,47 (16,36 - 18,35)
<b>n-9 PUFA</b>				
C20:3 n-9	0,06 (0,05 - 0,07)	0,07 (0,06 - 0,09)	0,18 (0,14 - 0,24)	0,19 (0,16 - 0,23)
<b>n-6 PUFA</b>				
C18:2 n-6	16,57 (15,03 - 18,76)	17,27 (15,96 - 18,28)	4,53 (4,16 - 5,62)	4,60 (4,14 - 4,98)
C18:3 n-6	0,05 (0,03 - 0,06)	0,05 (0,03 - 0,06)	0,05 (0,04 - 0,12)	0,05 (0,04 - 0,09)
C20:2 n-6	0,41 (0,37 - 0,42)	0,41 (0,37 - 0,45)	0,31 (0,27 - 0,45)	0,29 (0,26 - 0,38)
C20:3 n-6	1,84 $\pm$ 0,10	2,03 $\pm$ 0,08	1,56 (1,38 - 1,97)	1,58 (1,45 - 1,93)
C20:4 n-6	6,69 (4,71 - 8,31)	7,47 (6,29 - 8,09)	27,78 (24,46 - 29,19)	28,33 (27,54 - 29,54)
C22:2 n-6	0,05 (0,03 - 0,10)	0,04 (0,03 - 0,06)	0,08 (0,06 - 0,10)	0,07 (0,05 - 0,09)
C22:4 n-6	0,43 (0,35 - 0,54)	0,47 (0,43 - 0,53)	7,97 $\pm$ 0,18	7,81 $\pm$ 0,17
C22:5 n-6	0,19 (0,12 - 0,24)	0,17 (0,14 - 0,21)	1,30 $\pm$ 0,06	1,29 $\pm$ 0,05
<b>Gesamt</b>	27,31 (26,67 - 28,57)	27,90 (26,81 - 28,86)	43,48 $\pm$ 0,75	44,44 $\pm$ 0,39
<b>n-6 LC-PUFA</b>	9,70 (7,36 - 11,51)	10,66 (9,46 - 11,37)	38,47 $\pm$ 0,83	39,64 $\pm$ 0,36
<b>n-3 PUFA</b>				
C18:3 n-3	0,10 (0,07 - 0,14)	0,08 (0,06 - 0,13)	0,07 (0,06 - 0,12)	0,07 (0,04 - 0,09)
C20:3 n-3	0,05 (0,02 - 0,12)	0,06 (0,02 - 0,10)	0,04 (0,01 - 0,23)	0,16 (0,04 - 0,27)
C20:5 n-3	0,15 (0,10 - 0,21)	0,16 (0,13 - 0,22)	0,46 (0,37 - 0,64)	0,54 (0,44 - 0,73)
C22:5 n-3	0,36 $\pm$ 0,03 *	0,46 $\pm$ 0,02 *	3,30 $\pm$ 0,19	3,56 $\pm$ 0,10
C22:6 n-3	1,53 $\pm$ 0,13	1,65 $\pm$ 0,11	7,54 $\pm$ 0,37	7,92 $\pm$ 0,38
<b>Gesamt</b>	2,21 $\pm$ 0,17	2,47 $\pm$ 0,14	11,57 $\pm$ 0,55	12,31 $\pm$ 0,47
<b>n-3 LC-PUFA</b>	2,11 $\pm$ 0,48	2,38 $\pm$ 0,43	11,16 (9,40 - 12,87)	11,40 (10,82 - 12,89)
<b>n-6/n-3</b>	11,92 (9,74 - 17,90)	11,22 (9,61 - 13,36)	3,80 (3,38 - 4,47)	3,70 (3,22 - 4,03)

SFA saturated fatty acids (gesättigte Fettsäuren), MUFA monounsaturated fatty acids (einfach ungesättigte Fettsäuren), PUFA polyunsaturated fatty acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren), LC-PUFA long-chain polyunsaturated fatty acid (langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren), PC Phosphatidylcholin, PE Phosphatidylethanolamin

- \*  $p_{\text{korr}} \leq 0,05$
- \*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,01$
- \*\*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,001$

### **3.3.3 Einfluss weiterer Faktoren auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran von Kindern im Alter von 3 Monaten in der multivariaten Analyse**

Frühere Studien haben gezeigt, dass das Stillenverhalten, Schwangerschaftsdauer, Geburtsgewicht und Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft oder Stillzeit die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembranen der Kinder beeinflussen können. Diese Faktoren wurden als Kovariaten in der multivariaten Analyse eingesetzt.

#### ***Mütterlicher Typ 1 Diabetes***

In Übereinstimmung mit der univariaten Analyse war zwar der mütterliche Typ 1 Diabetes in der multivariaten Analyse mit höheren SFA Anteilen in der Erythrozytenmembran der Kinder im Alter von 3 Monaten verbunden [PC: 14:0:  $0,56 \pm 0,05$  vs.  $0,36 \pm 0,05$ ,  $p=0,007$ ], beeinflusste aber nicht die prozentualen Anteile von EPA und DHA.

#### ***Voll Stillen in den ersten 3 Monaten***

27 Kinder wurden in den ersten 3 Monaten voll gestillt und 21 Kinder wurden nicht voll gestillt. In der PC Fraktion hatten voll gestillte Kinder signifikant höhere prozentuale Anteile der gesättigten Fettsäure 18:0 [ $13,02 \pm 0,19$  vs.  $10,99 \pm 0,26$   $p=0,000$ ], der einfach ungesättigten Fettsäuren 16:1 n-9 [ $0,37 \pm 0,02$  vs.  $0,26 \pm 0,02$   $p=0,001$ ], 18:1 n-7 [ $2,03 \pm 0,06$  vs.  $2,02 \pm 0,08$   $p=0,008$ ], der n-6 PUFA 20:3 n-6 [ $2,09 \pm 0,07$  vs.  $1,64 \pm 0,09$   $p=0,000$ ], 20:4 n-6 [ $7,33 \pm 0,35$  vs.  $5,99 \pm 0,46$   $p=0,026$ ] und der gesamten n-6 LC-PUFA [ $10,54 \pm 0,40$  vs.  $8,67 \pm 0,52$   $p=0,007$ ] gegenüber den nicht voll gestillten Kindern.

In der PE Fraktion hatten voll gestillte Kinder signifikant höhere prozentuale Anteile der MUFA 16:1 n-7 [ $0,15 \pm 0,01$  vs.  $0,09 \pm 0,01$   $p=0,001$ ] der n-3 PUFA 22:5 n-3 [ $3,78 \pm 0,15$  vs.  $3,15 \pm 0,19$   $p=0,012$ ], der gesamten n-3 PUFA [ $13,55 \pm 0,43$  vs.  $11,27 \pm 0,56$   $p=0,003$ ] und den gesamten n-3 LC-PUFA [ $12,86 \pm 0,38$  vs.  $10,82 \pm 0,49$   $p=0,002$ ] im Vergleich zu den nicht voll gestillten Kindern.

Währenddessen hatten die voll gestillten Kinder in der PC Fraktion signifikant niedrigere prozentuale Anteile der gesättigten Fettsäure 16:0 [ $34,16 \pm 0,25$  vs.  $35,82 \pm 0,33$   $p=0,000$ ], der MUFA 20:1 n-9 [ $0,34 \pm 0,02$  vs.  $0,50 \pm 0,03$   $p=0,000$ ] sowie der-3

PUFA 18:3 n-3 [ $0,07 \pm 0,01$  vs.  $0,12 \pm 0,01$   $p=0,000$ ]. In der PE Fraktion waren die prozentualen Anteile der MUFA 18:1 n-9 [ $15,47 \pm 0,34$  vs.  $17,58 \pm 0,45$   $p=0,001$ ], 20:1 n-9 [ $0,45 \pm 0,03$  vs.  $0,66 \pm 0,04$   $p=0,000$ ], der gesamten MUFA [ $17,38 \pm 0,38$  vs.  $19,72 \pm 0,50$   $p=0,001$ ], der n-6 PUFA 18:2 n-6 [ $4,39 \pm 0,19$  vs.  $5,39 \pm 0,25$   $p=0,003$ ], 20:2 n-6 [ $0,28 \pm 0,02$  vs.  $0,41 \pm 0,02$   $p=0,001$ ], 22:2n-6 [ $0,07 \pm 0,04$  vs.  $0,19 \pm 0,05$   $p=0,027$ ] und der n-3 PUFA 18:3 n-3 [ $0,05 \pm 0,01$  vs.  $0,11 \pm 0,01$   $p=0,000$ ] signifikant niedriger bei den voll gestillten Kindern als bei den nicht voll gestillten Kindern.

Insbesondere zeigte sich, dass die voll gestillten Kinder signifikant höhere prozentualen Anteile von EPA und DHA in der PE Fraktion besaßen [EPA:  $0,71 \pm 0,05$  vs.  $0,53 \pm 0,06$   $p=0,04$ ; DHA:  $8,84 \pm 0,32$  vs.  $7,34 \pm 0,43$   $p=0,008$ ] als die nicht voll gestillten Kinder im Alter von 3 Monaten (Abb. 14). In der PC Fraktion haben sich die prozentualen Anteile von EPA und DHA zwischen den beiden Gruppen nicht unterschieden [EPA:  $0,20 \pm 0,03$  vs.  $0,19 \pm 0,04$   $p=0,880$ ; DHA:  $1,87 \pm 0,12$  vs.  $1,50 \pm 0,15$   $p=0,068$ ]. Weiterhin war der Quotient n-6/n-3 Fettsäuren sowohl in den PE Lipiden als auch in den PC Lipiden bei den gestillten Kindern signifikant niedriger als bei den nicht gestillten Kindern [PE:  $3,29 \pm 0,16$  vs.  $4,23 \pm 0,21$   $p=0,001$ ; PC:  $10,74 \pm 0,95$  vs.  $14,08 \pm 1,25$   $p=0,04$ ].

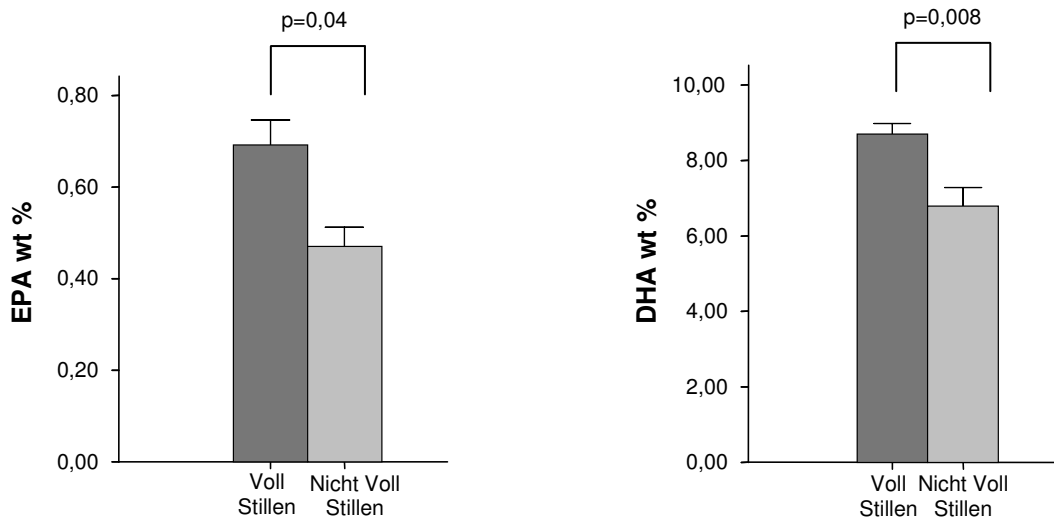
### ***Fischölsupplemente während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit***

Weiterhin hatten auch die Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit Fischölsupplemente einnahmen signifikant höhere prozentuale Anteil von EPA und DHA in der PE Fraktion im Alter von 3 Monaten [EPA:  $0,72 \pm 0,07$  vs.  $0,52 \pm 0,04$   $p=0,02$ ; DHA:  $8,93 \pm 0,46$  vs.  $7,24 \pm 0,29$   $p=0,008$ ] als Kinder, deren Mütter keine Fischölsupplemente nahmen (Abb. 15). In der PC Fraktion haben sich die prozentualen Anteile von EPA und DHA zwischen den beiden Gruppen nicht unterschieden [EPA:  $0,21 \pm 0,05$  vs.  $0,18 \pm 0,03$   $p=0,615$ ; DHA:  $1,86 \pm 0,17$  vs.  $1,51 \pm 0,11$   $p=0,085$ ]. Außerdem waren auch die prozentualen Anteile der gesamten n-3 PUFA und n-3 LC-PUFA in den PE Lipiden signifikant höher bei den Kindern von Müttern, die während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit Fischölsupplemente einnahmen als in der Vergleichsgruppe (n-3 PUFA:  $13,46 \pm 0,61$  vs.  $11,35 \pm 0,40$   $p=0,008$ ; n-3 LC-PUFA:  $12,85 \pm 0,54$  vs.  $10,82 \pm 0,35$   $p=0,004$ ). Ferner hatten auch die Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit Fischölsupplemente einnahmen einen signifikant niedrigeren Quotient der n-6/n-3 Fettsäuren in der PE Fraktion, aber nicht in der PC Fraktion, als Kinder, deren Mütter keine

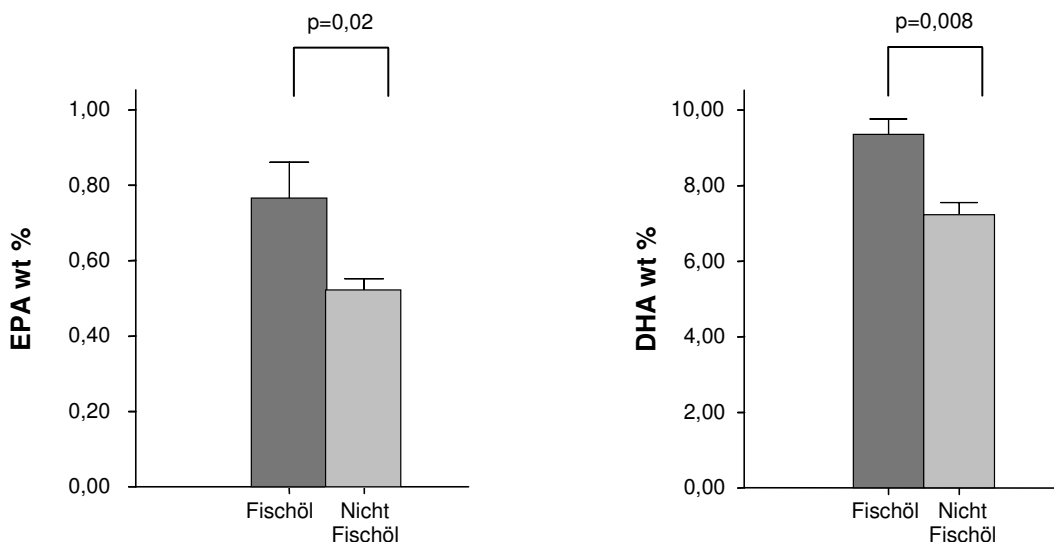
Fischölsupplemente nahmen [PE:  $3,40 \pm 0,23$  vs.  $4,12 \pm 0,15$   $p=0,016$ , PC:  $11,24 \pm 1,36$  VS:  $13,48 \pm 0,86$   $p=0,203$ ].

### **Schwangerschaftsdauer und Geburtsgewicht**

Schwangerschaftsdauer und Geburtsgewicht beeinflussten nicht die Anteile von EPA und DHA in der PE und PC Fraktionen der Erythrozytenmembran im Alter von 3 Monaten.



**Abb. 14:** Vergleich der prozentualen Anteile von EPA und DHA in der PE Fraktion der Erythrozytenmembran von 3 Monate alten Kindern, die voll gestillt bzw. nicht voll gestillt wurden



**Abb. 15:** Vergleich der prozentualen Anteile von EPA und DHA in der PE Fraktion der Erythrozytenmembran von 3 Monate alten Kindern, deren Mütter während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit Fischölsupplemente einnahmen bzw. keine Fischölsupplemente einnahmen



### 3.3.4 Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran zwischen voll gestillten Kinder von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 3 Monaten

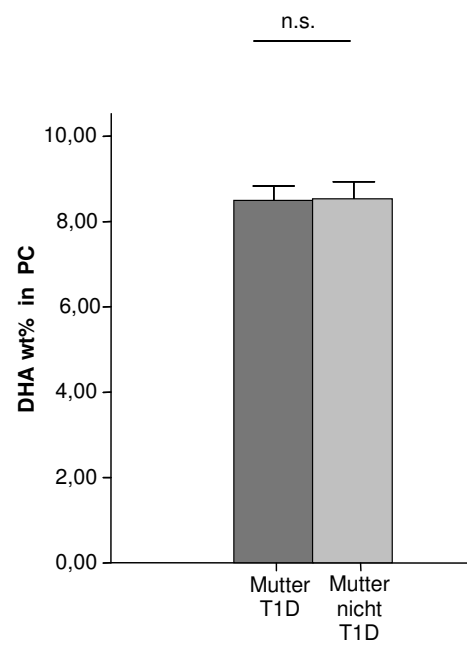
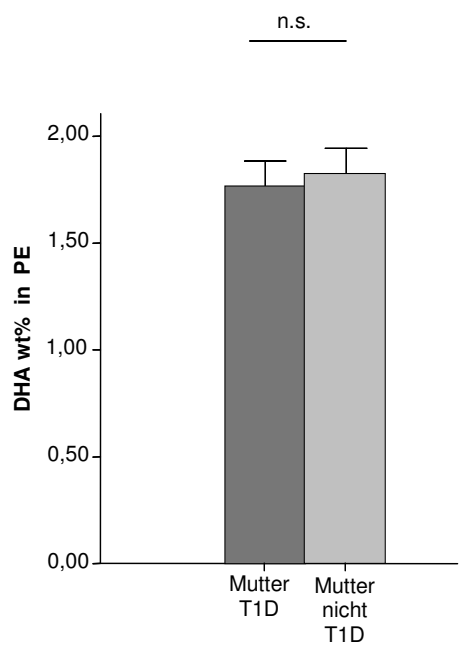
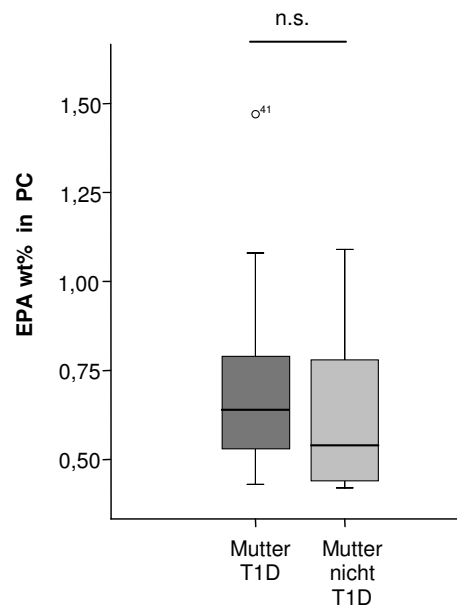
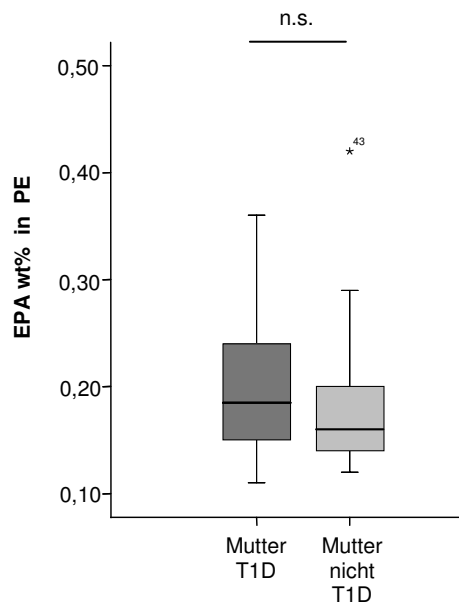
Kinder, die voll gestillt wurden und eine Mutter mit Typ 1 Diabetes hatten, besaßen im Alter von 3 Monaten signifikant höhere prozentuale Anteile von 14:0 in der PC Fraktion [ $14:0$   $0,63 \pm 0,06$  vs.  $0,42 \pm 0,02$ ,  $p_{\text{korrigiert}}=0,01$ ] als voll gestillte Kinder von nicht diabetischen Müttern (Tab. 19). Die prozentualen Anteile aller anderen Fettsäuren waren zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes vergleichbar. Ferner haben sich auch nicht die prozentualen Anteile von DHA und EPA zwischen den beiden Gruppen unterschieden [PC EPA:  $0,19$  ( $0,15 - 0,25$ ) vs.  $0,16$  ( $0,14 - 0,22$ )  $p_{\text{korrigiert}}=0,473$ , DHA  $1,77 \pm 0,11$  vs.  $1,83 \pm 0,12$   $p_{\text{korrigiert}}=0,755$ ; PE EPA:  $0,64$  ( $0,51 - 0,86$ ) vs.  $0,54$  ( $0,44 - 0,82$ )  $p_{\text{korrigiert}}=0,334$ , DHA:  $8,05 \pm 0,34$  vs.  $8,53 \pm 0,12$   $p_{\text{korrigiert}}=0,950$ ] (Abb. 16). Auch nachdem die Fettsäuregruppen SFA, MUFA, PUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA und n-3 und n-6 LC-PUFA verglichen wurden, konnten keine Unterschiede zwischen den voll gestillten Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes festgestellt werden ( $p_{\text{korrigiert}} > 0,05$ ). Weiterhin hat sich auch nicht der Quotient der n-6/n-3 Fettsäuren zwischen den voll gestillten Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes unterschieden [PC:  $11,06$  ( $9,33 - 12,17$ ) vs.  $11,22$  ( $9,66 - 12,89$ )  $p_{\text{korrigiert}}=0,537$ ; PE:  $3,47$  ( $2,96 - 3,67$ )  $3,56$  ( $2,97 - 4,03$ )  $p_{\text{korrigiert}}=0,386$ ] (Tab. 19).

**Tab. 19:** Fettsäurezusammensetzung der Phospholipidfraktionen der Erythrozytenmembran der in den ersten 3 Monaten voll gestillten Kinder von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes (Gewichtsprozente, Mittelwert  $\pm$  SEM bzw. Median mit IQR)

	PC		PE	
	Mutter mit T1D n=10	Mutter ohne T1D n=17	Mutter mit T1D n=10	Mutter ohne T1D n=17
<b>SFA</b>				
C14:0	0,63 $\pm$ 0,06**	0,42 $\pm$ 0,02**	0,17 $\pm$ 0,02	0,17 $\pm$ 0,03
C16:0	34,43 $\pm$ 0,40	33,36 $\pm$ 0,28	15,13 (14,62-15,91)	15,22 (14,43 - 15,52)
C18:0	12,77 (11,99 - 13,44)	13,32 (12,87 - 13,69)	9,05 $\pm$ 0,26	9,14 $\pm$ 0,20
C20:0	0,18 (0,14 - 0,21)	0,16 (0,15 - 0,18)	0,12 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,01
C22:0	0,08 $\pm$ 0,02	0,14 $\pm$ 0,03	0,01 (0,01 - 0,02)	0,01 (0,01 - 0,03)
C24:0	0,11 (0,09 - 0,31)	0,46 $\pm$ 0,12	0,02 (0,00 - 0,02)	0,01 (0,01 - 0,03)
<b>Gesamt</b>	48,25 (47,6 - 48,97)	47,80 (47,19 - 48,23)	24,46 (23,55 - 25,53)	24,45 (23,49 - 25,24)
<b>MUFA</b>				
C16:1 n-7	0,40 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,03	0,15 $\pm$ 0,04
C18:1 n-9	17,58 (16,85 - 18,23)	17,01 (16,36 - 18,199)	15,96 (14,68 - 16,85)	15,06 (14,32 - 15,74)
C18:1 n-7	2,23 $\pm$ 0,06	2,18 $\pm$ 0,04	1,23 $\pm$ 0,03	1,18 $\pm$ 0,03
C20:1 n-9	0,35 (0,30 - 0,38)	0,34 (0,31 - 0,38)	0,48 (0,43 - 0,51)	0,44 (0,40 - 0,50)
C22:1 n-9	0,06 (0,04 - 0,07)	0,06 (0,05 - 0,07)	0,06 (0,05 - 0,07)	0,05 (0,04 - 0,07)
C24:1 n-9	0,25 (0,15 - 0,46)	0,24 (0,14 - 0,70)	0,08 (0,03 - 0,19)	0,03 (0,01 - 0,10)
<b>Gesamt</b>	20,89 (20,48 - 21,71)	20,33 (19,62 - 21,22)	18,02 (16,75 - 18,80)	17,07 (16,03 - 17,57)
<b>n-9 PUFA</b>				
C20:3 n-9	0,07 (0,06 - 0,09)	0,07 $\pm$ 0,01	0,18 (0,13 - 0,28)	0,17 (0,15 - 0,22)
<b>n-6 PUFA</b>				
C18:2 n-6	16,15 (15,23 - 17,14)	17,23 (15,96 - 17,72)	4,32 (4,07 - 4,60)	4,53 (4,11 - 4,76)
C18:3 n-6	0,06 (0,04 - 0,06)	0,04 (0,03 - 0,06)	0,05 (0,04 - 0,09)	0,05 (0,04 - 0,08)
C20:2 n-6	0,41 (0,38 - 0,45)	0,42 (0,37 - 0,48)	0,27 (0,25 - 0,30)	0,28 (0,24 - 0,35)
C20:3 n-6	2,12 $\pm$ 0,12	2,18 $\pm$ 0,08	1,58 (1,40 - 1,90)	1,57 (1,32 - 1,93)
C20:4 n-6	7,97 (6,26 - 8,42)	7,50 (7,23 - 8,36)	28,24 (27,13 - 30,27)	28,31 (27,80 - 29,51)
C22:2 n-6	0,05 (0,02 - 0,08)	0,04 (0,03 - 0,06)	0,07 (0,03 - 0,08)	0,06 (0,05 - 0,08)
C22:4 n-6	0,49 (0,36 - 0,54)	0,50 (0,44 - 0,54)	7,81 $\pm$ 0,25	7,71 $\pm$ 0,19
C22:5 n-6	0,19 (0,12 - 0,23)	0,16 (0,14 - 0,22)	1,29 $\pm$ 0,08	1,31 $\pm$ 0,07
<b>Gesamt</b>	27,15 (26,71 - 27,66)	28,44 (26,81 - 29,05)	44,03 $\pm$ 0,89	44,12 $\pm$ 0,44
<b>n-6 LC-PUFA</b>	11,28 (9,16 - 11,93)	10,93 (10,43 - 11,91)	39,59 $\pm$ 1,06	39,64 $\pm$ 0,44
<b>n-3 PUFA</b>				
C18:3 n-3	0,08 (0,06 - 0,10)	0,07 (0,05 - 0,09)	0,06 (0,05 - 0,07)	0,05 (0,04 - 0,07)
C20:3 n-3	0,10 (0,04 - 0,12)	0,06 (0,03 - 0,10)	0,13 (0,03 - 0,28)	0,09 (0,03 - 0,24)
C20:5 n-3	0,19 (0,15 - 0,25)	0,16 (0,14 - 0,22)	0,64 (0,51 - 0,86)	0,54 (0,44 - 0,82)
C22:5 n-3	0,45 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,02	3,95 $\pm$ 0,27	3,61 $\pm$ 0,12
C22:6 n-3	1,77 $\pm$ 0,11	1,83 $\pm$ 0,12	8,05 $\pm$ 0,34	8,53 $\pm$ 0,12
<b>Gesamt</b>	2,59 $\pm$ 0,13	2,60 $\pm$ 0,16	13,37 $\pm$ 0,60	12,95 $\pm$ 0,50
<b>n-3 LC-PUFA</b>	2,51 $\pm$ 0,13	2,53 $\pm$ 0,15	11,93 (11,48 - 13,71)	10,93 (10,90 - 13,52)
<b>n-6/n-3</b>	11,06 (9,33 - 12,17)	11,22 (9,66 - 12,89)	3,47 (2,96 - 3,67)	3,56 (2,97 - 4,03)

SFA saturated fatty acids (gesättigte Fettsäuren), MUFA monounsaturated fatty acids (einfach ungesättigte Fettsäuren), PUFA polyunsaturated fatty acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren), LC-PUFA long-chain polyunsaturated fatty acid (langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren), PC Phosphatidylcholin, PE Phosphatidylethanolamin

\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,05$   
 \*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,01$   
 \*\*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,001$



**Abb.16:** Vergleich der prozentualen Anteile von EPA und DHA in PE und PC im Alter von 3 Monaten zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes, die in den ersten 3 Monaten voll gestillt wurden

### 3.3.5 Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 12 Monaten

Im Alter von 12 Monaten hatten Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes niedrigere prozentuale Anteile der gesättigten Fettsäure 18:0 [ $p_{\text{korr}}=0,025$ ] in der PE Fraktion, von 22:0 in der PC Fraktion [ $p_{\text{korr}}=0,05$ ] und niedrigere prozentuale Anteile der MUFA 24:1 n-9 [ $p_{\text{korr}}=0,05$ ] und der n-3 PUFA DHA [ $p_{\text{korr}}=0,015$ ] in der PE Fraktion (Tab. 20). Auf der anderen Seite hatten Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes höhere prozentuale Anteile von PUFA 18:2 n-6 [ $p_{\text{korr}}=0,05$ ] und 18:3 n-3 [ $p_{\text{korr}}=0,000$ ] in der PE Fraktion als Kinder von nicht diabetischen Müttern (Tab. 20). Als die Fettsäuregruppen SFA, MUFA, PUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA und n-3 und n-6 LC-PUFA verglichen wurden, konnten keine Unterschiede gefunden werden. Außerdem hat sich auch nicht der Quotient der n-6/n-3 Fettsäuren zwischen den beiden Gruppen unterschieden ( $p_{\text{korr}}>0,05$ ), (Tab. 20).

Nach Korrektur für die Gesamtstilldauer und die Teilnahme an der Glutenintervention in der multivariaten Analyse hatten Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes einen signifikant höheren prozentuale Anteil von 24:1 n-9 in der PC Fraktion [PC 24:1 n-9:  $0,31 \pm 0,03$  vs.  $0,17 \pm 0,03$   $p_{\text{korr}}=0,025$ ] als Kinder von nicht diabetischen Müttern. Die Stilldauer beeinflusste die prozentuale Anteile von MUFA 20:1 n-9 [ $p_{\text{korr}}=0,005$ ], von n-3 PUFA DHA [ $p_{\text{korr}}=0,000$ ] und von den gesamten n-3 PUFA [ $p_{\text{korr}}=0,005$ ] in der PE Fraktion der Erythrozytenmembran.

**Tab. 20:** Fettsäurezusammensetzung der Phospholipidfraktionen der Erythrozytenmembran der 12 Monate alten Kinder von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes (Gewichtsprozente, Mittelwert  $\pm$  SEM bzw. Median mit IQR)

	PC		PE	
	Mutter mit T1D n=25	Mutter ohne T1D n=24	Mutter mit T1D n=25	Mutter ohne T1D n=24
<b>SFA</b>				
C14:0	0,43 $\pm$ 0,02	0,41 $\pm$ 0,03	0,12 (0,11 - 0,18)	0,16 (0,12 - 0,23)
C16:0	35,89 (34,13 - 37,01)	34,89 (33,46 - 36,23)	15,04 $\pm$ 0,37	14,85 $\pm$ 0,46
C18:0	10,91 (10,22 - 11,28)	11,42 (10,84 - 12,45)	8,25 (7,78 - 8,61)*	9,06 (8,53 - 9,69)*
C20:0	0,15 (0,14 - 0,17)	0,15 (0,12 - 0,17)	0,12 (0,09 - 0,13)	0,12 (0,09 - 0,18)
C22:0	0,05 (0,02 - 0,05)*	0,06 (0,04 - 0,13)*	0,04 (0,01 - 0,07)	0,03 (0,02 - 0,06)
C24:0	0,09 (0,07 - 0,11)	0,14 (0,08 - 0,50)	0,02 (0,00 - 0,05)	0,02 (0,00 - 0,03)
<b>Gesamt</b>	46,91 (46,15 - 47,91)	47,36 (46,49 - 48,36)	23,28 $\pm$ 0,59	24,47 $\pm$ 0,48
<b>MUFA</b>				
C16:1 n-7	0,40 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01
C18:1 n-9	18,31 $\pm$ 0,29	18,34 $\pm$ 0,27	17,16 $\pm$ 0,36	16,77 $\pm$ 0,36
C18:1 n-7	1,99 $\pm$ 0,04	1,85 $\pm$ 0,05	1,18 $\pm$ 0,03	1,11 $\pm$ 0,03
C20:1 n-9	0,37 $\pm$ 0,02	0,36 $\pm$ 0,01	0,63 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,02
C22:1 n-9	0,40 (0,35 - 0,45)	0,06 (0,43 - 0,78)	0,07 (0,06 - 0,09)	0,08 (0,05 - 0,09)
C24:1 n-9	0,17 (0,14 - 0,23)*	0,29 (0,15 - 0,44)*	0,06 (0,04 - 0,09)	0,04 (0,03 - 0,08)
<b>Gesamt</b>	21,33 $\pm$ 0,33	21,28 $\pm$ 0,31	19,25 $\pm$ 0,40	18,69 $\pm$ 0,38
<b>n-9 PUFA</b>				
C20:3 n-9	0,08 (0,06 - 0,10)	0,07 (0,04 - 0,08)	0,13 (0,11 - 0,15)	0,11 (0,10 - 0,14)
<b>n-6 PUFA</b>				
C18:2 n-6	20,60 $\pm$ 0,44	20,12 $\pm$ 0,42	6,68 $\pm$ 0,17*	6,00 $\pm$ 0,20*
C18:3 n-6	0,06 (0,05 - 0,08)	0,05 (0,04 - 0,06)	0,06 (0,05 - 0,09)	0,07 (0,04 - 0,09)
C20:2 n-6	0,40 (0,35 - 0,45)	0,38 (0,34 - 0,42)	0,43 $\pm$ 0,02	0,38 $\pm$ 0,02
C20:3 n-6	1,90 $\pm$ 0,07	1,65 $\pm$ 0,07	1,53 (1,40 - 2,23)	1,48 (1,31 - 1,74)
C20:4 n-6	5,30 $\pm$ 0,28	5,29 $\pm$ 0,34	26,75 $\pm$ 0,57	26,91 $\pm$ 0,57
C22:2 n-6	0,05 (0,04 - 0,07)	0,07 (0,04 - 0,13)	0,13 $\pm$ 0,01	0,11 $\pm$ 0,01
C22:4 n-6	0,43 (0,37 - 0,48)	0,40 (0,30 - 0,47)	9,42 $\pm$ 0,24	8,57 $\pm$ 0,33
C22:5 n-6	0,21 (0,14 - 0,26)	0,20 (0,15 - 0,23)	1,45 (1,19 - 1,74)	1,23 (1,02 - 1,44)
<b>Gesamt</b>	29,69 (28,58 - 30,65)	28,69 (26,98 - 30,45)	46,87 $\pm$ 0,70	44,81 $\pm$ 0,78
<b>n-6 LC-PUFA</b>	8,29 $\pm$ 0,35	8,32 $\pm$ 0,53	40,11 $\pm$ 0,75	38,75 $\pm$ 0,83
<b>n-3 PUFA</b>				
C18:3 n-3	0,15 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01***	0,11 $\pm$ 0,01***
C20:3 n-3	0,07 (0,03 - 0,09)	0,08 (0,03 - 0,10)	0,22 (0,16 - 0,27)	0,25 (0,19 - 0,27)
C20:5 n-3	0,14 (0,10 - 0,21)	0,14 (0,10 - 0,19)	0,51 $\pm$ 0,04	0,56 $\pm$ 0,04
C22:5 n-3	0,43 (0,35 - 0,53)	0,42 (0,27 - 0,49)	0,53 (0,36 - 0,61)	0,55 (0,38 - 0,66)
C22:6 n-3	0,89 (0,66 - 1,16)	0,99 (0,82 - 1,35)	4,25 (3,82 - 5,68)*	5,64 (4,46 - 7,34)*
<b>Gesamt</b>	1,74 (1,38 - 2,16)	1,80 (1,57 - 2,29)	9,48 $\pm$ 0,33	10,83 $\pm$ 0,40
<b>n-3 LC-PUFA</b>	1,59 (1,23 - 1,98)	1,67 (1,41 - 2,13)	8,95 $\pm$ 0,30	10,28 $\pm$ 0,38
<b>n-6/n-3</b>	16,27 (12,43 - 18,30)	17,18 (13,94 - 22,01)	4,19 (3,82 - 4,72)	4,67 (4,07 - 5,05)

SFA saturated fatty acids (gesättigte Fettsäuren), MUFA monounsaturated fatty acids (einfach ungesättigte Fettsäuren), PUFA polyunsaturated fatty acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren), LC-PUFA long-chain polyunsaturated fatty acid (langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren), PC Phosphatidylcholin, PE Phosphatidylethanolamin

\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,05$   
 \*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,01$   
 \*\*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,001$

### 3.3.6 Vergleich der Fettsäurezusammensetzung von PE und PC der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes im Alter von 24 Monaten

Im Alter von 24 Monaten waren keine Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes festzustellen. Insbesondere waren keine Unterschiede in den prozentualen Anteilen von EPA und DHA zwischen den beiden Gruppen zu beobachten [PC EPA:  $0,25 \pm 0,03$  vs.  $0,23 \pm 0,02$   $p_{\text{koriert}}=0,623$ ; DHA  $1,01$  ( $0,86 - 1,37$ ) vs.  $1,16$  ( $0,80 - 1,28$ )  $p_{\text{koriert}}=0,880$ ; PE EPA:  $0,75 \pm 0,06$  vs.  $0,76 \pm 0,04$   $p_{\text{koriert}}=0,837$ ; DHA:  $5,36 \pm 0,28$  vs.  $5,84 \pm 0,43$   $p_{\text{koriert}}=0,383$ ] (Tab. 21) Es konnten ebenfalls keine Unterschiede bzgl. des Anteils der Fettsäuregruppen SFA, MUFA, PUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA und n-3 und n-6 LC-PUFA zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes gefunden werden. Darüber hinaus war der Quotient der n-6/n-3 Fettsäuren zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes nicht unterschiedlich ( $p_{\text{koriert}}>0,05$ ), (Tab. 21). Auch nach Korrektur für die Glutenintervention in der multivariaten Analyse hatten Kinder von diabetischen Müttern vergleichbare prozentuale Fettsäureanteile in der Erythrozytenmembran wie Kinder von nicht diabetischen Müttern (PC EPA:  $0,24 \pm 0,03$  vs.  $0,23 \pm 0,03$   $p_{\text{koriert}}=0,779$ ; DHA:  $1,28 \pm 0,193$  vs.  $1,19 \pm 0,23$   $p_{\text{koriert}}=0,767$ ; PE EPA:  $0,75 \pm 0,056$  vs.  $0,77 \pm 0,07$   $p_{\text{koriert}}=0,793$ ; DHA:  $5,36 \pm 0,32$  vs.  $5,83 \pm 0,40$   $p_{\text{koriert}}=0,359$ ).

**Tab. 21:** Fettsäurezusammensetzung der Phospholipidfraktionen der Erythrozytenmembran der 24 Monate alten Kinder von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes (Gewichtsprozente, Mittelwert  $\pm$  SEM bzw. Median mit IQR)

	PC		PE	
	Mutter mit T1D n=19	Mutter ohne T1D n=13	Mutter mit T1D n=19	Mutter ohne T1D n=13
<b>SFA</b>				
C14:0	0,41 $\pm$ 0,03	0,43 $\pm$ 0,03	0,17 $\pm$ 0,02	0,16 $\pm$ 0,01
C16:0	34,04 (33,46 - 34,59)	33,15 (32,04 - 35,37)	13,94 (13,22 - 15,29)	14,63 (13,12 - 14,97)
C18:0	11,86 $\pm$ 0,24	11,87 $\pm$ 0,30	8,95 (8,51 - 9,64)	8,83 (8,14 - 10,42)
C20:0	0,14 $\pm$ 0,01	0,15 $\pm$ 0,01	0,09 (0,07 - 0,11)	0,14 (0,07 - 0,17)
C22:0	0,08 $\pm$ 0,01	0,10 $\pm$ 0,02	0,04 (0,02 - 0,06)	0,03 (0,01 - 0,04)
C24:0	0,13 (0,08 - 0,32)	0,13 (0,10 - 0,45)	0,01 (0,01 - 0,04)	0,02(0,01 - 0,03)
<b>Gesamt</b>	46,82 (46,25 - 47,36)	46,74 (45,50 - 47,49)	23,35 (22,20 - 24,90)	23,39 (22,04 - 25,39)
<b>MUFA</b>				
C16:1 n-7	0,42 $\pm$ 0,03	0,38 $\pm$ 0,04	0,14 $\pm$ 0,01	0,14 $\pm$ 0,01
C18:1 n-9	18,15 $\pm$ 0,35	17,63 $\pm$ 0,47	16,45 $\pm$ 0,40	15,40 $\pm$ 0,37
C18:1 n-7	1,70 (1,61 - 1,77)	1,74 (1,63 - 1,84)	1,04 $\pm$ 0,03	0,95 $\pm$ 0,02
C20:1 n-9	0,29 (0,27 - 0,30)	0,27 (0,25 - 0,30)	0,49 (0,45 - 0,57)	0,46 (0,43 - 0,49)
C22:1 n-9	0,05 (0,04 - 0,06)	0,05 (0,04 - 0,06)	0,05 (0,04 - 0,08)	0,05 (0,04 - 0,06)
C24:1 n-9	0,24 $\pm$ 0,03	0,26 $\pm$ 0,04	0,07 $\pm$ 0,02	0,11 $\pm$ 0,05
<b>Gesamt</b>	20,87 $\pm$ 0,39	20,33 $\pm$ 0,53	18,27 $\pm$ 0,43	17,07 $\pm$ 0,39
<b>n-9 PUFA</b>				
C20:3 n-9	0,12 (0,09 - 0,15)	0,10 (0,06 - 0,13)	0,17 $\pm$ 0,01	0,16 $\pm$ 0,01
<b>n-6 PUFA</b>				
C18:2 n-6	19,32 $\pm$ 0,39	21,11 $\pm$ 0,63	5,51 $\pm$ 0,197	6,00 $\pm$ 0,28
C18:3 n-6	0,07 $\pm$ 0,01	0,07 $\pm$ 0,01	0,09 (0,07 - 0,10)	0,09 (0,07 - 0,10)
C20:2 n-6	0,35 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,01	0,29 $\pm$ 0,02
C20:3 n-6	1,90 $\pm$ 0,08	1,95 $\pm$ 0,10	1,37 (1,23 - 1,87)	1,48 (1,29 - 1,68)
C20:4 n-6	5,98 $\pm$ 0,32	5,99 $\pm$ 0,26	28,13 $\pm$ 0,60	28,51 $\pm$ 0,41
C22:2 n-6	0,05 (0,03 - 0,11)	0,04 (0,03 - 0,07)	0,08 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,01
C22:4 n-6	0,48 (0,39 - 0,51)	0,40 (0,38 - 0,49)	8,72 $\pm$ 0,23	8,25 $\pm$ 0,29
C22:5 n-6	0,22 (0,18 - 0,27)	0,20 (0,17 - 0,24)	1,30 $\pm$ 0,07	1,35 $\pm$ 0,05
<b>Gesamt</b>	29,55 (27,18 - 30,18)	30,51 (29,38 - 30,97)	45,65 $\pm$ 0,66	46,10 $\pm$ 0,65
<b>n-6 LC-PUFA</b>	9,45 (8,35 - 10,30)	8,97 (8,30 - 9,42)	40,05 $\pm$ 0,72	40,00 $\pm$ 0,61
<b>n-3 PUFA</b>				
C18:3 n-3	0,16 $\pm$ 0,01	0,17 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,01
C20:3 n-3	0,10 (0,07 - 0,11)	0,09 (0,06 - 0,10)	0,22 $\pm$ 0,02	0,20 $\pm$ 0,03
C20:5 n-3	0,25 $\pm$ 0,03	0,23 $\pm$ 0,02	0,75 $\pm$ 0,06	0,76 $\pm$ 0,04
C22:5 n-3	0,50 (0,44 - 0,61)	0,49 (0,42 - 0,55)	4,71 $\pm$ 0,17	4,69 $\pm$ 0,19
C22:6 n-3	1,01 (0,86 - 1,37)	1,16 (0,80 - 1,28)	5,36 $\pm$ 0,28	5,84 $\pm$ 0,43
<b>Gesamt</b>	2,01 (1,81 - 2,36)	2,05 (1,67 - 2,50)	11,16 $\pm$ 0,41	11,62 $\pm$ 0,54
<b>n-3 LC-PUFA</b>	1,82 (1,67 - 2,17)	1,89 (1,50 - 2,31)	10,37 $\pm$ 0,37	10,81 $\pm$ 0,50
<b>n-6/n-3</b>	14,25 (12,73 - 15,86)	14,67 (11,93 - 18,51)	4,18 (3,74 - 4,68)	4,06 (3,58 - 4,52)

SFA saturated fatty acids (gesättigte Fettsäuren), MUFA monounsaturated fatty acids (einfach ungesättigte Fettsäuren), PUFA polyunsaturated fatty acids (mehrfach ungesättigte Fettsäuren), LC-PUFA long-chain polyunsaturated fatty acid (langkettige, mehrfach ungesättigte Fettsäuren), PC Phosphatidylcholin, PE Phosphatidylethanolamin

\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,05$   
 \*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,01$   
 \*\*\*  $p_{\text{korr}} \leq 0,001$

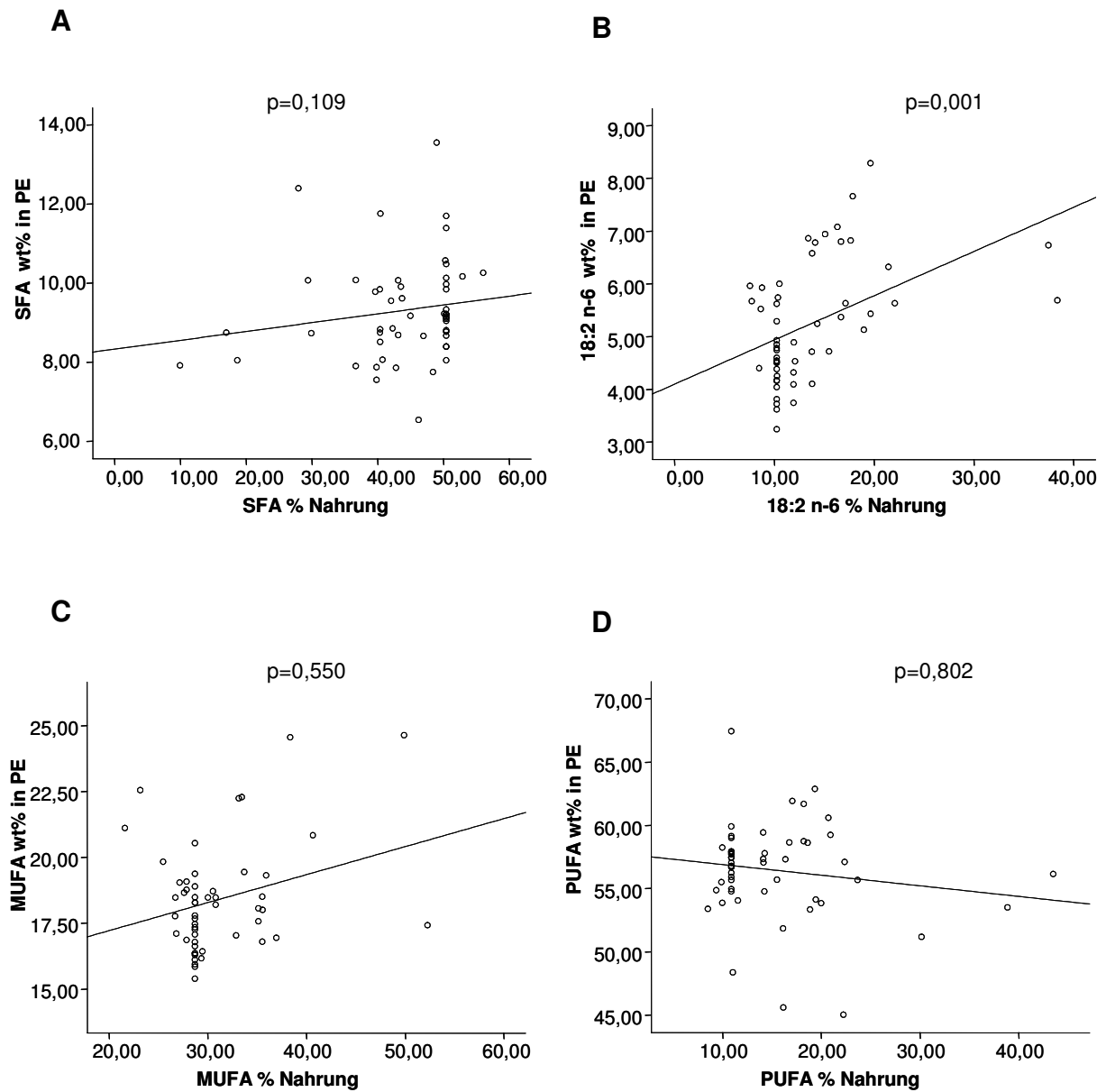
### **3.3.7 Korrelation zwischen der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran und der durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung**

Insgesamt wurden zu den Blutproben 53 die dazugehörigen 3-Tages-Ernährungsprotokolle angefertigt und am Forschungsinstitut für Kinderernährung in Dortmund ausgewertet.

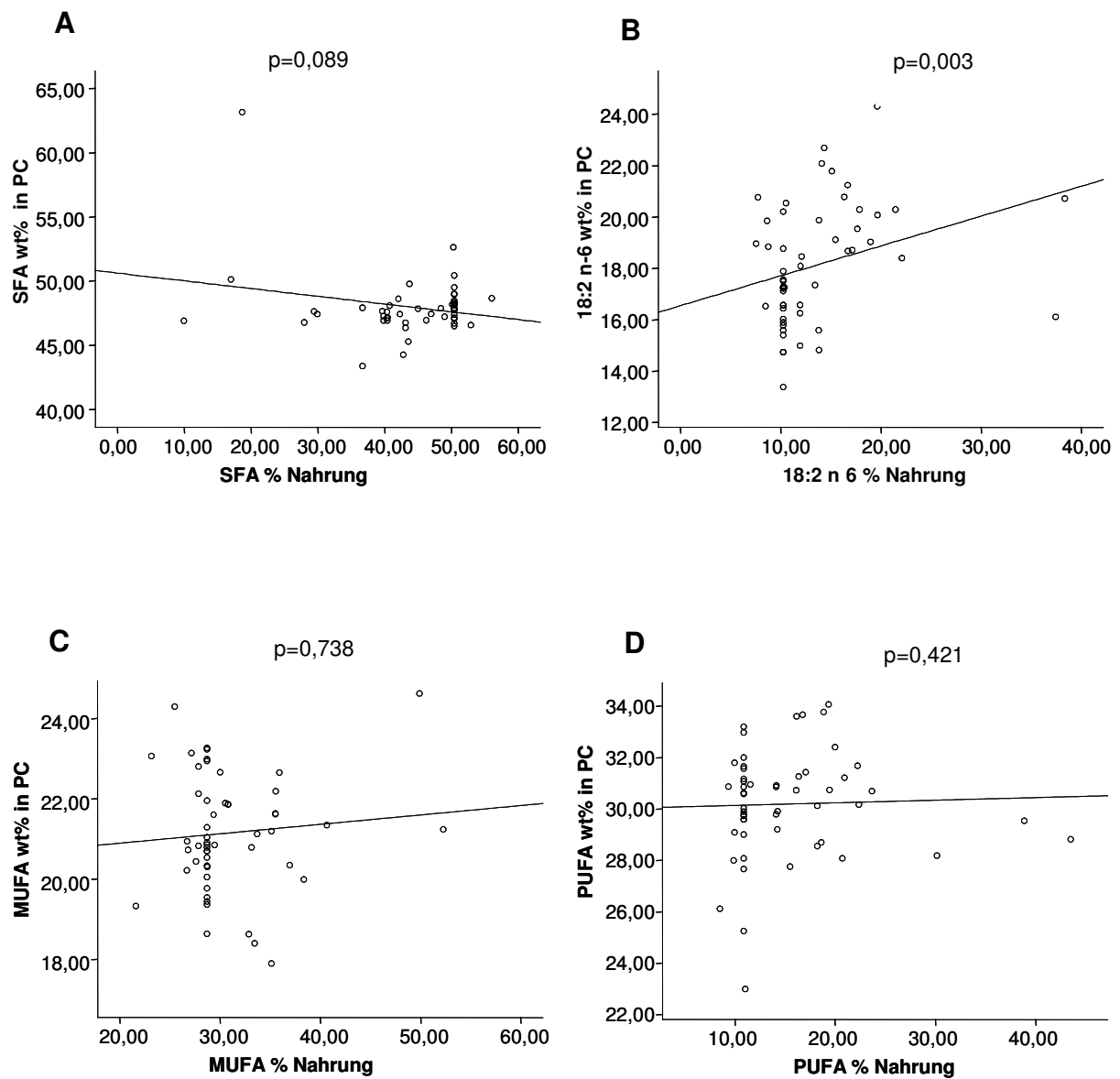
Eine signifikante Korrelation zwischen der Linolsäureaufnahme mit der Nahrung und den prozentualen Anteilen der Linolsäure in den Phospholipidfraktion PE und PC der Erythrozytenmembran konnte festgestellt werden (PE:  $r=0,455$   $p=0,001$ , PC:  $r=0,400$   $p=0,003$ ), (Abb. 17, Abb. 18).

Im Gegensatz dazu korrelierten die durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung nicht mit den korrespondierenden Fettsäuregruppen SFA, MUFA und PUFA der PE und PC Fraktionen der Erythrozytenmembran (PE: SFA  $r=0,223$   $p=0,109$ , MUFA  $r=0,084$   $p=0,550$ , PUFA  $r=-0,035$   $p=0,802$ ; PC: SFA  $r=0,236$   $p=0,089$ , MUFA  $r=-0,048$   $p=0,738$ , PUFA  $r=0,113$   $p=0,421$ ) (Abb. 17, Abb. 18).





**Abb. 17:** Korrelation zwischen der Fettsäureaufnahme mit der Nahrung (%) und den korrespondierenden Fettsäuren **(A)** SFA, **(B)** Linolsäure 18:2 n-6, **(C)** MUFA, **(D)** PUFA in der PE Fraktion der Erythrozytenmembran (wt%)



**Abb. 18:** Korrelation zwischen der Fettsäureaufnahme mit der Nahrung (%) und den korrespondierenden Fettsäuren **(A)** SFA, **(B)** Linolsäure 18:2 n-6, **(C)** MUFA, **(D)** PUFA in der PC Fraktion der Erythrozytenmembran (wt%),

## **3.4 Diskussion**

Ziel dieser Arbeit war es in einem Diabetes-Risikokollektiv die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran in Abhängigkeit einer Typ 1 Diabetes Erkrankung der Mutter zu untersuchen. Bis auf wenige Studien, die den Effekt des mütterlichen Diabetes auf die Fettsäurezusammensetzung der Plasmalipide und der Phospholipide der Erythrozytenmembran der Mütter und des Nabelschnurblutes der Neugeborenen untersuchten, ist diese vorliegende Arbeit der erste Versuch, den Einfluss des Typ 1 Diabetes bei Müttern auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei deren Nachkommen im Alter von 3, 12 und 24 Monaten zu erforschen. Da Kinder von Müttern mit Diabetes ein signifikant geringeres Risiko haben, Inselautoantikörper zu entwickeln oder an Typ 1 Diabetes zu erkranken als Kinder von Vätern mit Typ 1 Diabetes (Warram 1984, Bleich 1993, El-Hashimy 1995, Lorenzen 1998), soll diese Untersuchung indirekt darüber Auskunft geben, ob sich die Ernährung von Kindern diabetischer Mütter zu der Ernährung von Kindern diabetischer Väter unterscheidet.

### **3.4.1 Einfluss des mütterlichen Typ 1 Diabetes auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran**

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran nur geringfügig durch den mütterlichen Typ 1 Diabetes beeinflusst wurde. Im Vergleich zu den Kindern von nichtdiabetischen Müttern hatten die Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes im Alter von 3 Monaten höhere prozentuale Anteile von gesättigten Fettsäuren, insbesondere von 14:0. Diese Unterschiede konnten ebenfalls beobachtet werden, wenn nur voll gestillte Kinder analysiert wurden. Im Alter von 12 Monaten konnten einige wenige Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes gefunden werden, während im Alter von 24 Monaten keine Abweichungen entdeckt wurden.

Die beobachteten kleinen Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytemembran bei den Kindern von Müttern mit Typ 1 Diabetes resultieren wahrscheinlich aus Abweichungen in der Muttermilchzusammensetzung der Mütter mit

Typ 1 Diabetes. Diese sind durch einen veränderten Fettstoffwechsel der diabetischen Mütter bedingt. Es ist bekannt, dass Insulin eine wichtige Rolle in der Lipogenese der Milchdrüse spielt (Jones 1984). Somit können Veränderungen in den Plasmainsulinkonzentrationen die Qualität und Quantität der Milchlipide beeinflussen. So ergab eine Untersuchung von Robinson et al., dass ein Streptozotocin induzierter Diabetes bei Ratten die Fettsäuresynthese in den Milchdrüsen der Ratten reduziert (Robinson 1978). Andere Untersuchungen deuten weiter darauf hin, dass ein Mangel an Insulin die Aktivität von Phosphofructo-Kinase und Acetyl-Co-A-Carboxylase einschränkt. Beide Enzyme sind ebenfalls wichtige regulatorische Enzyme in der Lipogenese (Burnol 1988, Munday 1986).

Ferner beeinflusst Insulin Enzyme in der Leber, die im Rahmen der Biosynthese von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren für die Kettenverlängerung und Einführung von Doppelbindungen von Fettsäuren verantwortlich sind. So sind die Aktivitäten der  $\Delta 6$ - und der  $\Delta 5$ -Desaturase, die für die Synthese von PUFA nötig sind, durch den Diabetes beeinträchtigt (el Boustani 1989, Arisaka 1991, Brenner 2000). Dennoch scheint eine Behandlung mit Insulin die normale Aktivität der Enzyme  $\Delta 6$ - und der  $\Delta 5$ -Desaturase wiederherzustellen (el Boustani 1989, Igal 1991).

Auf der anderen Seite wird aber auch von einem verminderten PUFA Status der diabetischen Mütter berichtet (Tilvis 1985, Lakin 1998). Zu diesen Ergebnisse kamen auch Min et al., die in den PE und PC Lipiden der Erythrozytenmembran von Müttern mit Typ 1 Diabetes signifikant geringere Konzentrationen an DHA als in der Kontrollgruppe fanden. Außerdem wurden in den PE Lipiden des Nabelschnurblutes der Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes ebenfalls niedrigere DHA Konzentrationen gemessen (Min 2005). Ghebremeskel et al. hatten einen verminderten Gehalt von Arachidonsäure und DHA in den Plasmalipiden des Nabelschnurblutes bei gesunden Neugeborenen von Müttern mit Typ 1 Diabetes gefunden (Ghebremeskel 2004). Im Gegensatz zu diesen beiden Studien konnten diese Unterschiede in der vorliegenden Untersuchung bezüglich den prozentualen Anteilen von EPA, DHA, den gesamten n-3 PUFA und den gesamten n-6 PUFA in den Phospholipiden der Erythrozytenmembran im Alter von 3, 12 und 24 Monaten nicht bestätigt werden.

Über die Zusammensetzung von Muttermilch diabetischer Mütter gibt es nur wenige Untersuchungen mit kontroversen Ergebnissen. Bitmann et al. untersuchten die Muttermilchzusammensetzung einer diabetischen Mutter vom 3. bis 7. Tag postpar-

tum und beobachteten geringere Konzentrationen der MUFA C10-C14 und einen höheren Gehalt an Ölsäure (18:1 n-9) sowie höhere Konzentrationen an PUFA in der Milch der diabetischen Mutter im Vergleich zu der Referenzpopulation. Die beobachteten Unterschiede wurden auf eine veränderte Fettsynthese in den Milchdrüsen als auch auf eine vermehrte Kettenverlängerung zurückgeführt (Bitmann 1989). Dem gegenüber berichteten Jackson et al. geringere Konzentrationen von PUFA in der Muttermilch von Müttern mit Typ 1 Diabetes 14-84 Tage postpartum (Jackson 1994). In einer anderen Studie konnten keine Unterschiede in der Milchzusammensetzung vom 3-35 Tag postpartum von 6 Müttern mit streng kontrollierten Typ 1 Diabetes im Vergleich zu den 5 Müttern in der Kontrollgruppe festgestellt werden (van Beusekom 1993). Im Vergleich zu diesen Studienergebnissen, die aufgrund ihrer kleinen Probenanzahl limitiert sind, wurde in dieser Analyse eine relativ große Anzahl von 129 Blutproben untersucht.

### **3.4.2 Einfluss weiterer Faktoren auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran**

Weiterhin konnten auch einige weitere Faktoren gefunden werden, die die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran beeinflussen können. So war das Vollstillen in den ersten 3 Monaten sowie eine Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft und/oder der Stillzeit mit einem erhöhten prozentualen Anteil von EPA und DHA und der gesamten n-3 PUFA und n-3 LC-PUFA in der PE Fraktion verbunden. Diese Ergebnisse bestätigen frühere Studien, die zeigten, dass Stillen und eine Fischölsupplementierung während der Schwangerschaft oder der Stillzeit signifikant die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran der Kinder beeinflussen. So zeigten Henderson et al., dass durch eine Supplementierung von 6 g Fischöl pro Tag über 21 Tage während der Stillzeit der Anteil an EPA und an DHA in der Erythrozytenmembran sowohl bei den Kindern als auch bei den Müttern zunahm, während keine Veränderungen im DHA Gehalt und n-6 Fettsäuregehalt beobachtet wurde (Henderson 1992). Eine Studie von Dunston et al., die den Effekt von 4 g Fischöl pro Tag ab der 20. Schwangerschaftswoche bis zur Geburt auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran von Mutter und Kind untersuchte, zeigte, dass im Vergleich zu der Kontrollgruppe die Mütter in der Interventi-

onsgruppe signifikant höhere prozentuale Anteile von EPA und DHA in der Erythrozytenmembran zwischen der 30.-37. Schwangerschaftswoche hatten, dieses Ergebnis blieb bis zur 6. Woche postpartum konstant. Weiterhin waren die Anteile der n-6 PUFA bei den Müttern in der Interventionsgruppe reduziert. Bezüglich der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran des Nabelschnurblutes der Kinder konnten ebenfalls erhöhte Anteile von EPA und DHA und geringere Anteile von n-6 PUFA im Vergleich zu der Kontrollgruppe in dieser Studie festgestellt werden. Ferner ist auch eine Fischölsupplementierung während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit mit einem erhöhten Gehalt von n-3 PUFA in der Muttermilch verbunden (Henderson 1992, Dunston 2004b, Borris 2004).

Es konnte ebenfalls schon nachgewiesen werden, dass gestillte Kinder einen höheren Status von n-3 Fettsäuren, insbesondere von DHA in der Erythrozytenmembran besitzen als Kinder, die Formulanahrung erhalten (Putnam 1982, Granot 2000, Innis 1994). Auch in der Untersuchung von Granot et al. waren im Alter von 2 bis 4 Monate die prozentualen Anteile der gesamt n-3 Fettsäuren und der DHA der Erythrozytenmembran höher bei den gestillten Kindern als im Vergleich zu den Kindern, die mit Formulanahrung ernährt wurden. Aber hier zeigte sich, dass der prozentuale Anteil von EPA sich nicht zwischen den Gruppen unterschied. Gegenüber der vorliegenden Arbeit wurden hier die Gesamtlipide der Erythrozytenmembran bestimmt. In einer anderen Studie bei 40 Kindern im Alter von 4,5-6 Monaten, besaßen die gestillten Kinder höhere prozentuale Anteile von n-3 und n-6 LC-PUFA sowohl in den PE Lipiden als auch in den PC Lipiden (Putnam 1982). In Übereinstimmung mit der vorliegenden Analyse war in einer aktuelleren Studie mit 97 Kindern (2-12 Monate alt) exklusives Stillen mit einem erhöhten Gehalt von DHA in den Erythrozyten PE Lipiden der Kinder verbunden. Im Gegensatz zu der vorliegenden Analyse war in der Studie von Minda der Gehalt von EPA in den PE und PC Lipiden bei den Kindern, die exklusiv gestillt wurden, vermindert (Minda 2002). Darüber hinaus gibt es eine Vielzahl von weiteren Publikationen, die zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich den prozentualen Anteilen von EPA und DHA sowohl in der PE Fraktion als auch in der PC Fraktion der Erythrozytenmembran gekommen sind (Innis 1994, 1997, Auestad 1997). Die in der vorliegenden Analyse beobachteten signifikant höheren Anteile der Arachidonsäure 20:4 n-6, einer Fettsäure, die ebenfalls für die frühkindliche Entwicklung entscheidend ist, in der PC Fraktion bei den gestillten Kindern, konnte

ebenfalls schon in früheren publizierten Studien nicht nur für die PC Fraktion sondern auch für die PE Fraktion gefunden werden (Minda 2002, Innis 1994, 1997). Es wurde weiterhin schon über einen verminderten Anteil der Fettsäuren Linolsäure, Ölsäure und  $\alpha$ -Linolensäure in der Erythrozytenmembran von gestillten Kindern im Vergleich zu nicht gestillten Kindern berichtet, diese Befunde konnten in der vorliegenden Arbeit ebenso bestätigt werden (Minda 2002, Innis 1994, 1997).

Die gefundenen Unterschiede zwischen den gestillten und nicht gestillten Kindern beruht auf der Tatsache, dass sich die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch zu der von industriell gefertigten Formulanahrungen erheblich unterscheidet. Traditionelle Formulanahrung auf Kuhmilchbasis werden mit Hilfe von Pflanzenölen hergestellt, die zwar Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure enthalten, aber nicht Docosahexaensäure oder Arachidonsäure (Koletzko 1999). Die Menge an Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure in der Formulanahrung hängt andererseits auch von der Art des verwendeten Pflanzenöles ab, was dann wiederum in einer veränderten Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran resultiert (Innis 1992, 1997). Die Fettsäurezusammensetzung der Muttermilch hängt wie schon erwähnt von verschiedenen Faktoren ab, wie Ernährung der Mutter, Milchfettkonzentration, Stilldauer, Schwangerschaftsdauer oder Stoffwechselerkrankungen der Mutter (Olsen 1992, Kovasc 2005, Minda 2004, Jackson 1994). Dabei stammt der größte Teil der essentiellen Fettsäuren in der Muttermilch aus den mütterlichen Fettdepots und ca. 30% direkt aus der Ernährung (Demmelmaier 1998).

Durch eine Anreicherung von Formulanahrungen mit LC-PUFA erreichen Flaschenkinder ähnliche Fettsäurelevels in den Erythrozytenmembranen wie gestillte Kinder (Koletzko 1999, Makrides 1995, Maurage 1998), was folglich in Studien im Hinblick auf die frühkindliche Entwicklung auch zu einer besseren neuronalen und visuellen Leistung führte (Carlson 1996, Agostoni 1995). In der vorliegenden Analyse hat aber keines der nicht voll gestillten Kinder eine Formulanahrung mit LC-PUFA bekommen. Im Rahmen dieser Arbeit konnte weiterhin gezeigt werden, dass der Quotient n-6/n-3 Fettsäuren nicht durch den mütterlichen Typ 1 Diabetes beeinflusst wird. Jedoch hatten voll gestillte Kinder in der PE und PC Fraktion und Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft und/oder Stillzeit Fischölsupplemente einnahmen in der PE Fraktion einen signifikant niedrigeren Quotienten n-6/n-3 Fettsäuren. Diese Befunde bestätigen, dass Muttermilch ein optimales Verhältnis n-6 zu n-3 Fettsäuren besitzt (Hanson 2003). Die Fettsäurezusammensetzung in der Erythrozytenmembran

wird durch das Verhältnis n-6 zu n-3 Fettsäure über die Nahrung beeinflusst (Brenner 1966). Im menschlichen Organismus können die langkettigen, mehrfach ungesättigten n-3 und n-6 Fettsäuren C20 bis C22 aus der Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure über Einführung von Doppelbindungen und Kettenverlängerungen gebildet werden. Dabei können durchschnittlich nur 1-4% der  $\alpha$ -Linolensäure in Docosahexaensäure (22:6n-3) umgesetzt werden (Sprecher 1995). Linolsäure und  $\alpha$ -Linolensäure dienen als Substrat für die Desaturasen, dabei wird die  $\alpha$ -Linolensäure bevorzugt umgesetzt. Somit unterdrückt ein höherer Quotient n-6/n-3 Fettsäuren die Umsetzung der  $\alpha$ -Linolensäure, was wiederum in einer vermehrten Bildung von n-6 LC-PUFA resultiert. Ein weiterer wichtiger Aspekt, der in diesen Zusammenhang nicht vergessen werden darf, ist die Versorgung des Neugeborenen mit wichtigen immunmodulierenden Faktoren über die Muttermilch für die Reifung und Entwicklung des Darms und des darmassoziierten Immunsystems. Darüber hinaus stellt die Muttermilch aber auch Antikörper, Leukozyten, Lysozym und Lactoferrin für einen passiven Immunschutz bereit, so dass ein Fehlen von Muttermilch mit einer veränderten Entwicklung des darmassoziierten Immunsystems unter Verdacht steht, was wiederum auch in der Pathogenese des Typ 1 Diabetes von Bedeutung sein kann (Harrison 1999, Hanson 2003).

Frühgeborene haben oft gegenüber reif geborenen Kindern einen signifikant geringeren Status an essentiellen n-6 und n-3 PUFA (Foreman-van Drongelen 1995, Hornstra 2000). Dennoch scheinen die Konzentrationen an essentiellen Fettsäuren in den Phospholipiden des Nabelschnurblutes von Frühgeborenen sich nicht von den Nabelschnurblutkonzentrationen von Feten in einem vergleichbaren Gestationsalter zu unterscheiden (van Houwelingen 1996). Die Fettsäurezusammensetzung des fötalen Blutes und des Blutes der Mutter ändert sich während der Schwangerschaft dahingehend, dass mit fortschreitender Schwangerschaft sich vor allem der Anteil an DHA erhöht (van Houwelingen 1996, Al 2000), somit ist der geringe LC-PUFA Status des Frühgeborenen physiologisch begründet (Hornstra 2000). Weiterhin wurde auch eine positive Korrelation zwischen dem Geburtsgewicht und den Konzentrationen an DHA, Arachidonsäure und Dihomo- $\gamma$ -Linolensäure im Nabelschnurblut beobachtet (Leaf 1992, Foreman-van Drongelen 1995). Ferner gibt es auch widersprüchliche Untersuchungen bezüglich der Fettsäurezusammensetzung von Muttermilch zwischen Müttern mit frühgeborenen Kindern und Müttern mit reif geborenen Kindern



(Kovasc 2005). In der vorliegenden Analyse beeinflussten aber Schwangerschaftsdauer und Geburtsgewicht nicht die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran. Auf der einen Seite wurde hier nicht wie in den vorangegangenen Studie das Nabelschnurblut untersucht, sondern das Blut im Alter von 3 Monaten und auf der anderen Seite war jeweils nur ein Kind in jeder Gruppe ein Frühgeborenes.

Die Genauigkeit der gefundenen Ergebnisse beruht auf der Annahme, dass durch die Verwendung der Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran als unabhängigen quantitativen Biomarker Auskunft über die Ernährung der letzten Monate gegeben wird. Daneben reflektiert die Erythrozytenmembran sowohl die Fettsäureaufnahme mit der Nahrung als auch den individuellen Fettmetabolismus (Arab 2002, 2003).

Ein weiterer limitierender Faktor dieser Arbeit ist die Bestimmung der prozentualen Anteile der Fettsäuren und nicht die Bestimmung der absoluten Konzentration jeder Fettsäure sowie die fehlende Analyse der Gesamtlipide der Erythrozytenmembran.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung, dass nur geringfügige Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes bestehen. Es konnte ebenfalls bestätigt werden, dass Muttermilch eine ausgezeichnete Quelle zur Bereitstellung LC-PUFA wie EPA und DHA ist. Auch voll gestillte Kinder von diabetischen Müttern hatten eine vergleichbare Versorgung.

Dennoch waren die prozentualen Anteile von EPA und DHA geringer bei nicht voll gestillten Kindern als bei voll gestillten Kindern. Somit sollten fischölsupplementierte Formulanahrungen für nicht voll gestillte Kinder diabetischer Mütter in Betracht gezogen werden, damit eine gleiche Zusammensetzung an EPA und DHA in der Erythrozytenmembran wie von voll gestillten Kindern erreicht werden kann. Weitere Studien sind nötig, um die gefundenen Ergebnisse zu bestätigen.

### **3.4.3 Korrelation zwischen der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran und der durch die 3-Tages-Ernährungsprotokolle erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung**

Neben der Bestimmung des Fettsäuregehaltes von Serum, Plasma und des Fettgewebes gilt die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran als ein geeigneter Biomarker für die Fettsäureaufnahme mit der Nahrung. (Fuhrman 2006, Farquhar 1963, Innis 1992, Feunekes 1993, Glatz 1989, Godley 1996). Vor allem reflektiert sie den Status an Monoenfettsäuren wie der Ölsäure und den LC-PUFA EPA und DHA (Vlaardingerbroek 2004). Aufgrund ihrer Lebensdauer von 120 Tagen spiegeln sie die Ernährung von mehreren Monaten wieder (Arab 2002, 2003).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte geklärt werden, ob die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran mit den durch die 3-Tages-Ernährungsprotokollen erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung korreliert. Hierzu wurden 53 Blutproben und die dazugehörigen Protokolle ausgewertet.

Eine positive Korrelation konnte zwischen der Linolsäureaufnahme mit der Nahrung und dem Linolsäuregehalt in den Phospholipiden der Erythrozytenmembran festgestellt werden (PE:  $r=0,455$   $p=0,001$ , PC:  $r=0,400$   $p=0,003$ ).

Die Daten von Glatz et al. und Feunekes et al. weisen übereinstimmend darauf hin, dass der Linolsäuregehalt in der Erythrozytenmembran mit der Linolsäureaufnahme mit der Nahrung korreliert. Glatz et al. untersuchte bei 47 Probanden, ob der Linolsäuregehalt in der Erythrozytenmembran die Änderung in der Fettsäurezufuhr mit der Nahrung im Rahmen einer Ernährungsinterventionsstudie widerspiegelt und berichtete von einem positiven Zusammenhang (Glatz 1989). In der Studie von Feunekes et al. war ebenfalls der Linolsäuregehalt in der Erythrozytenmembran mit der Linolsäureaufnahme über die Nahrung in den letzten Monaten assoziiert ( $r = 0,44$ ). Die Linolsäurezufuhr mit der Nahrung wurde anhand eines Food Frequency Questionnaires und über ein ernährungsgeschichtliches Interview erhoben (Feunekes 1993).

Da die Linolsäure zu den essentiellen Fettsäuren gehört und somit mit der Nahrung zugeführt werden muss, deutet das positive Ergebnis in der vorliegenden Arbeit ebenfalls darauf hin, dass der Linolsäuregehalt in der Erythrozytenmembran ein geeigneter Biomarker für die Linolsäurezufuhr mit der Nahrung in den letzten Monaten und Wochen ist.

Ferner war aber kein Zusammenhang hinsichtlich der SFA, MUFA und PUFA Aufnahme mit der Nahrung und den korrespondierenden Fettsäuregruppe in der PE und PC Fraktion der Erythrozytenmembran zu beobachten. Ein möglicher Grund für das Fehlen einer positiven Korrelation zwischen der Fettsäureaufnahme mit der Nahrung und den korrespondierenden Fettsäuregruppen in den Phospholipiden der Erythrozytenmembran ist die nicht genaue Auswertung der Fettsäurezufuhr über die 3-Tages-Ernährungsprotokolle am Forschungsinstitut für Kinderernährung (FKE) in Dortmund. Die Fettaufnahme mit der Nahrung wurde nur als Gesamtfett, gesättigte Fettsäuren, einfach ungesättigte Fettsäuren, mehrfach ungesättigte Fettsäuren und Linolsäure in g/Tag analysiert und es erfolgte keine Auftrennung in die einzelnen Fettsäuren. Ein weiterer Grund könnte sein, dass die Anzahl der Proben zu gering war.

Im Vergleich hierzu zeigten Fuhrmann et al., dass der Erythrozyten Phospholipid Gehalt an Linolsäure, Ölsäure, gesamten PUFA, EPA und DHA mit den Daten zur Fettsäureaufnahme mit der Nahrung der untersuchten 204 Frauen korrelierte (Fuhrman 2006). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Poppitt et al., die einen positiven Zusammenhang zwischen den aufgenommen Fettsäuren Ölsäure, EPA und DHA mit der Nahrung (im Rahmen einer randomisierten Cross-over Studie mit zugeteilter und kontrollierter Diät) und den entsprechenden Fettsäuren in der Erythrozytenmembran aufzeigen konnten (Poppitt 2005). In einer aktuellen Studie von Orton et al. wurde ebenfalls eine positive Korrelation zwischen der gesamten n-3 Fettsäureaufnahme ( $p=0,23$ ;  $p<0,0001$ ) und den marinen PUFA ( $p=0,43$ ;  $p<0,0001$ ) in der Nahrung und den gesamten n-3 Fettsäuren und marinen PUFA in der Erythrozytenmembran gefunden. Ähnlich wie in der vorliegenden Untersuchung, analysierten Orton et al. die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei Kindern (Alter: 1-11 Jahre) mit einem erhöhtem Typ 1 Diabetes Risiko im Rahmen der DAISY Studie anhand von 917 Proben und korrelierten diese mit den durch ein Food Frequency Questionnaires erhobenen Daten zur Fettsäureaufnahme (Orton 2007). Da im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung in den anderen Studien anstatt eines 3-Tages-Ernährungsprotokolls ein Food Frequency Questionnaires zur Evaluierung der Fettsäureaufnahme mit der Nahrung verwendet wurde, stellt sich folglich hier die Frage, ob ein Food Frequency Questionnaires eventuell geeigneter für die Evaluierung der LC-PUFA mit der Nahrung als ein 3-Tages-Ernährungsprotokoll ist. Da Kleinkinder vermutlich nur gelegentlich Fisch verzehren, könnte somit die

Auskunft über den Fischverzehr durch ein 3-Tages-Ernährungsprotokoll inadäquat sein.

Schlussfolgernd zeigen die vorgestellten Ergebnisse dieser Arbeit, dass die Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran ein verlässlicher Biomarker für die Fettsäureaufnahme mit der Nahrung ist und bestätigt damit die Validität der gefundenen Ergebnisse bezüglich dem Vergleich der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes. Dennoch sollte in zukünftigen Studien die Erhebung der Fettsäureaufnahme mit der Nahrung durch ein 3-Tages-Ernährungsprotokoll nicht in Fettsäuregruppen sondern in einzelnen Fettsäuren erfolgen.

#### **3.4.4 Ausblick**

Untersuchungen zur Bedeutung der n-3 Fettsäuren EPA und DHA bei der Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes führten bislang zu sehr widersprüchlichen Befunden. Unter anderem beobachteten Stene et al. im Jahre 2000 in einer norwegischen Fall-Kontroll-Studie eine starke negative Korrelation zwischen Lebertran-Einnahme in der Schwangerschaft und dem Typ 1 Diabetes Risiko für die Nachkommen mit einem OR von 0.3 (95% Konfidenzintervall: 0,12-0,75). In einer Nachfolgestudie von 2003 konnte dieses Ergebnis nicht bestätigt werden, aber die Lebertran-Einnahme im ersten Lebensjahr war mit einem signifikanten verminderten Risiko für Typ 1 Diabetes verbunden. Jedoch stammen diese Ergebnisse aus retrospektiven Untersuchungen. Unklar in beiden Studien ist, ob die beobachtete Wirkung des Lebertrans auf die n-3 Fettsäuren allein oder die Kombination mit dem im Lebertran ebenfalls reichlich vorkommenden Vitamin D zurückzuführen ist. Denn auch dem Vitamin D wird eine im Bezug auf die Entstehung des Typ 1 Diabetes schützende Funktion zugeschrieben (Stene 2000, 2003).

Auf der Grundlage der gewonnenen Ergebnisse dieser Arbeit soll im weiteren Verlauf der BABYDIÄT Studie die Frage geklärt werden, ob eine Korrelation zwischen dem Anteil von n-3 Fettsäuren in der Erythrozytenmembran und der Entwicklung von Inselzellautoimmunität bzw. Typ 1 Diabetes bei Kleinkindern mit erhöhtem Diabetes-Risiko besteht. Aufgrund der noch zu kurzen Nachverfolgungszeit der BABYDIÄT Studie war dies im Zuge dieser Arbeit leider nicht möglich. Es werden weiterhin Pro-

ben zur Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bei den Kindern der BABYIDÄT Studie gesammelt und im Anschluss bezüglich der oben genannten Fragestellung ausgewertet. Ferner wird auch im Rahmen der TEDDY Studie (siehe Kapitel 2.4.3) die Rolle der n-3 Fettsäuren EPA und DHA in der Ätiologie des Typ 1 Diabetes durch Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran erforscht. In der TEDDY Studie werden hierzu Blutproben im Alter von 3, 6, 12 Monaten und anschließend jährlich gesammelt und analysiert.

## 4 Zusammenfassung

Der Typ 1 Diabetes ist eine chronische Autoimmunerkrankung, in deren Ätiologie neben einer genetischen Prädisposition auch Umweltfaktoren eine wichtige Rolle spielen. Da Inselautoimmunität bereits in ersten Lebensjahren auftreten kann, deuten verschiedene Studien darauf hin, dass vor allem frühkindliche Ernährungsfaktoren (kurze Stilldauer, zeitiges Einführen von Kuhmilch und Gluten, Trinkwasserqualität, geringe Versorgung mit n-3 Fettsäuren), entscheidend am Autoimmunprozess beteiligt sind. Jedoch stammen diese Befunde zum größten Teil aus retrospektiven Untersuchungen.

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit war es nun das Ziel, zum ersten Mal den Zusammenhang zwischen der Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr und der Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes anhand der prospektiven BABYDIAB Studie im Rahmen einer Nested Fall-Kontroll-Studie mit 234 Kindern zu untersuchen.

Es lassen sich für den ersten Teil der Arbeit folgende Befunde zusammenfassen:

1. In der univariaten Analyse konnte zwar ein marginaler Zusammenhang zwischen einem niedrigen pH-Wert und der Progression zum Typ 1 Diabetes gefunden werden ( $p=0,034$ ), d.h. Inselautoantikörper positive Kinder, die Trinkwasser mit einem niedrigeren pH-Wert ( $< 7,62$ ) im ersten Lebensjahr erhielten, besaßen ein 2,5-fach höheres Risiko einen Typ 1 Diabetes zu entwickeln als Kinder, die Trinkwasser mit einem höherem pH-Wert ( $\geq 7,62$ ) erhielten. Aber nach Korrektur für multiples Testen konnte dieser Zusammenhang nicht mehr festgestellt werden.
2. Weiterhin war zwar ein spektraler Absorptionskoeffizient (Färbung) von  $< 0,0825$  des Trinkwassers im ersten Lebensjahr mit einem signifikant verringerten Risiko für Inselautoimmunität gegenüber einem Absorptionskoeffizienten von  $\geq 0,0825$  (OR: 0,5; 95% Konfidenzintervall 0,2-0,9;  $p=0,02$ ) verbunden. Aber nach Korrektur für multiples Testen war dieses Ergebnis ebenfalls nicht mehr signifikant ( $p=0,18$ ). Jedoch lagen nur bei 44 Inselautoantikörper positiven Kindern und nur

bei 62 Inselautoantikörper negativen Kindern Angaben zur Färbung des Trinkwassers vor.

3. Es konnte kein Zusammenhang zwischen den anderen untersuchten Trinkwasserparametern pH-Wert, Trübung, Nitrat-, Nitrit-, Eisen-, Aluminium- und Mangankonzentration im ersten Lebensjahr und der Entwicklung von Inselautoimmunität und der Progression zum Typ 1 Diabetes nachgewiesen werden.
4. Weiterhin sollte im Rahmen dieser Arbeit geklärt werden, ob die Entstehung von Inselautoimmunität und Progression zum Typ 1 Diabetes und die Trinkwasserqualität im ersten Lebensjahr auch durch die geographische Lage beeinflusst wird. Es konnten keine Unterschiede in der Entstehung von Inselautoimmunität und in der Progression zum Typ 1 Diabetes zwischen Nord- und Süddeutschland innerhalb der BABYDIAB Population gefunden werden. Jedoch zeigte sich bezüglich der Trinkwasserqualität z. T. signifikante Unterschiede zwischen Nord- und Süddeutschland. Nach Korrektur für multiples Testen waren innerhalb der gesamten Nested Fall-Kontroll-Studienpopulation die Parameter Färbung, Nitrit-, Eisen- und Mangankonzentrationen, innerhalb der Inselautoantikörper positiven Kinder die Parameter pH-Wert, Nitrit- und Mangankonzentrationen und innerhalb der Inselautoantikörper negativen Kinder die Parameter Färbung, Eisen- und Mangankonzentrationen signifikant höher in Norddeutschland als in Süddeutschland.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse im ersten Teil dieser Arbeit zwar einen Zusammenhang zwischen der Färbung des Trinkwassers im ersten Lebensjahr und der Entstehung von Inselautoimmunität sowie zwischen dem pH-Wert des Trinkwassers und der Progression von Inselautoimmunität zum Typ 1 Diabetes, dennoch sind diese Assoziationen marginal.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit war es weiterhin das Ziel, den Einfluss des mütterlichen Typ 1 Diabetes auf die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran der an der BABYDIÄT Studie teilnehmenden Kindern zu untersuchen.

Es lassen sich für den zweiten Teil der Arbeit folgende Befunde zusammenfassen:

1. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran nur geringfügig durch den mütterlichen Typ 1 Diabetes beeinflusst wurde. Im Vergleich zu den Kindern von nichtdiabetischen Müttern hatten die Kinder von Müttern mit Typ 1 Diabetes im Alter von 3 Monaten höhere prozentuale Anteile von gesättigten Fettsäuren, insbesondere von 14:0 (PC: 14:0:  $0,56 \pm 0,05$  vs.  $0,36 \pm 0,05$ ,  $p=0,007$ ). Diese Unterschiede konnten ebenfalls beobachtet werden, wenn nur voll gestillte Kinder analysiert wurden. Im Alter von 12 Monaten konnten einige wenige Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen den Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes gefunden werden, während im Alter von 24 Monaten keine Abweichungen entdeckt wurden.
2. Weiterhin konnten auch einige weitere Faktoren gefunden werden, die die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran beeinflussen können. So war das Vollstillen in den ersten 3 Monaten sowie eine Fischölsupplementierung der Mutter während der Schwangerschaft und/oder der Stillzeit mit einem erhöhten prozentualen Anteil von EPA und DHA und der gesamten n-3 PUFA und n-3 LC-PUFA in der PE Fraktion verbunden. Schwangerschaftsdauer und Geburtsgewicht beeinflussten aber nicht die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran.
3. Eine positive Korrelation konnte zwischen der Linolsäureaufnahme mit der Nahrung und dem Linolsäuregehalt in den Phospholipiden der Erythrozytenmembran festgestellt werden (PE:  $r=0,455$   $p=0,001$ , PC:  $r=0,400$   $p=0,003$ ). Ferner war aber kein Zusammenhang hinsichtlich der SFA, MUFA und PUFA Aufnahme mit der Nahrung und den korrespondierenden Fettsäuregruppe in der Erythrozytenmembran zu beobachten.



Zusammenfassend zeigen die hier erhobenen Daten im zweiten Teil dieser Arbeit, dass sich die Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran zwischen Kindern von Müttern mit und ohne Typ 1 Diabetes nur geringfügig unterscheidet, insbesondere bei Kindern, die voll gestillt wurden. Die Bereitstellung von LC-PUFA wie EPA und DHA über die Muttermilch diabetischer Mütter ist mit der von Müttern ohne Typ 1 Diabetes vergleichbar. Dennoch waren die prozentualen Anteile von EPA und DHA geringer bei nicht voll gestillten Kindern als bei voll gestillten Kindern. Folglich sollten fischölsupplementierte Formulanahrungen für nicht voll gestillte Kinder diabetischer Mütter in Betracht gezogen werden, damit eine gleiche Zusammensetzung an EPA und DHA in der Erythrozytenmembran wie von voll gestillten Kindern erreicht werden kann. Weitere Studien sind nötig, um die gefundenen Ergebnisse zu bestätigen.

## 5 Literaturverzeichnis

- Abbaszadegan M**, Huber MS, Gerba CP, Pepper IL. Detection of Enteroviruses in Groundwater with the Polymerase Chain Reaction. *Appl. Environ. Microbiol.* 1993; 59 (5): 1318-1324
- Achenbach P**, Koczwara K, Knopff A, Naserke H, Ziegler AG, Bonifacio E. Mature high-affinity immune responses to (pro)insulin anticipate the autoimmune cascade that leads to type 1 diabetes. *J Clin Invest* 2004; 114: 589-597
- Achenbach P**, Bonifacio E, Koczwara K, Ziegler AG. Natural History of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2005; 54 Suppl. 2: 25-31
- Agostoni C**, Trojan S, Bellu R, Riva E, Giovannini M. Neurodevelopmental Quotient of Healthy Term Infants at 4 Months and Feeding Practice: The Role of Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids. *Pediatr Res* 1995; 38: 262-266
- Akerblom HK**, Virtanen SM, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O, Reunanen A, Teramo K, Hämäläinen AM, Paronen J, National TRIGR Study Group. Dietary manipulation of beta cell autoimmunity in infants at increased risk of type 1 diabetes: a pilot study. *Diabetologia* 2005; 48: 829-837
- AI DMM**, van Houwelingen AC, Hornstra G. Long-chain polyunsaturated fatty acids, pregnancy, and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (Suppl): 285-291
- Arab L**, Akbar J. Biomarkers and the measurement of fatty acids. *Public Health Nutrition* 2002; 5: 865-871
- Arab L**. Biomarkers of Fat and Fatty Acid Intake. *J. Nutr.* 2003; 133: 925S-932S
- Arisaka M**, Arisaka O, Yamashiro Y. Fatty Acids and Prostaglandin Metabolism in Children with Diabetes Mellitus. II. The Effect of Evening Primrose Oil Supplementation on Serum Fatty Acid and Plasma Prostaglandin Levels. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 1991; 43: 197-201
- Arrington JL**, Chapkin RS, Switzer KC, Morris JS, McMurray DN. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids modulate purified murine T-cell subset activation. *Clin Exp Immunol* 2001; 125: 499-507
- Atkinson MA**, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet* 2001; 358: 221-229
- Bach JF**. Insulin-Dependent Diabetes Mellitus as an Autoimmune Disease. *Endocrine Reviews* 1994; 15: 516-542
- Barker JM**. Clinical Review: Type 1 Diabetes-Associated Autoimmunity: Natural History, Genetic Associations, and Screening. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2006; 81: 1210-1217

- Barnett AH**, Eff C, Leslie RDG, Pyke DA. Diabetes in identical twins: a study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981, 20: 404-409
- Biesalski HK**, Fürst P, Kasper H, Kluthe R, Pöler W, Puchstein C, Stähelin HB (Hrsg): *Ernährungsmedizin*, Thieme Verlag, Stuttgart 1999
- Birch EE**, Garfield S, Hoffmann DR, Uauy R, Birch DG. A randomized controlled trial of early dietary supply of longchain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev Med Child Neurol* 2000; 42: 174-171
- Bitman J**, Hamosh M, Hamosh P, Lutes V, Neville MC, Seacat J, Wood DJ. Milk composition and volume during the onset of lactation in a diabetic mother. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 1364-1369
- Bleich D**, Polak M, Eisenbarth GS and Jackson RA. Decreased risk of type I diabetes in offspring of mothers who acquire diabetes during adrenarchy. *Diabetes* 1993; 42: 1433-1439
- Bodington MJ**, McNally PG, Burden AC. Cow's Milk and Type 1 Childhood Diabetes: No Increase in Risk. *Diabetic Medicine* 1994; 11:663-665
- Boris J**, Jensen B, Dalby Salvig JD, Secher NJ, Olsen SF. A Randomized Controlled Trial of the Effect of Fish Oil Supplementation in Late Pregnancy and Early Lactation on the n-3 Fatty Acid Content in Human Breast Milk. *Lipids* 2004; 39: 1191-1196
- Brenner RR**, Bernasconi AM, Garda HA. Effect of experimental diabetes on the fatty acid composition, molecular species of phosphatidyl-choline and physical properties of hepatic microsomal membranes. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 2000; 63: 167-176
- Burnol AF**, Ebner S, Ferré Girard J. Regulation by insulin of glucose metabolism in mammary gland of anaesthetized lactating rats. Stimulation of phosphofructokinase-1 by fructose 2,6-bisphosphate and activation of acetyl-CoA. *Biochem. J.* 1988; 254: 11-14
- Calder PC**. Immunoregulatory and antiinflammatory effects of n-3 poly-unsaturated fatty acids. *Braz J Med Biol Res* 1998; 31: 467-490
- Campbell IL**, Iscaro A, Harrison LC. IFN-gamma and tumor necrosis factor-alpha: cytotoxicity of murine islets of Langerhans. *J. Immunol* 1988, 141: 2325-2329
- Carlson SE**, Ford AJ, Werkman SH, Peeples JM, Koo WWK. Visual Acuity and Fatty Acid Status of Term Infants Fed Human Milk and Formulas with and without Docosahexaenoate and Arachidonate from Egg Yolk Lecithin. *Pediatr Res* 1996; 39: 882-888
- Casu A**, Carlini M, Contu A, Bottazzo GF, Songini M. Type 1 Diabetes in Sardinia Is Not Linked to Nitrate Levels in Drinking Water. *Diabetes Care* 2000; 23: 1043-1044

- Chausmer AB.** Zinc, Insulin and Diabetes. *Journal of the American College of Nutrition.* 1998; 17: 109-115
- Choi BCK.** N-nitroso compounds and human cancer. A molecular epidemiologic approach. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 737-743
- Chow CK, Hong CB.** Dietary vitamin E and selenium and toxicity of nitrite and nitrate. *Toxicology* 2002; 180: 195-207
- Classen JB, Classen DC.** Vaccines and the risk of insulin-dependent diabetes (IDDM): potential mechanism of action. *Medical Hypotheses* 2001; 57: 532-538
- Colman PG, Steele C, Couper JJ, Beresford SJ, Powell T, Kewming K, Pollard A, Gellert S, Tait B, Honeyman M, Harrison LC.** Islet autoimmunity in infants with a Type 1 diabetic relative is common but is frequently restricted to one autoantibody. *Diabetologia* 2000; 43: 203-209
- Couper JJ, Steele C, Beresford S, Powell T, McCaul K, Pollard A, Gellert S, Tait B, Harrison LC, Colman PG.** Lack of Association Between Duration of Breast-Feeding or Introduction of Cow's Milk and Development of Islet Autoimmunity. *Diabetes* 1999; 48: 2145-2149
- Cronin CC, Feighery A, Ferries JB, Liddy C, Shanahan F, Feighery C.** High prevalence of celiac disease among patients with insulin-dependent (type 1) diabetes mellitus. *J Gastroenterol* 1997; 92: 2210-2212
- Dalquist GG, Blom Leif G, Persson LA, Sandström AIM, Wall SGI.** Dietary factors and the risk of developing insulin dependent diabetes in childhood. *BMJ* 1990; 300: 1302-1306
- Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, Copemann JB, Cordell HJ, Pritchard LE, Reed PW, Gough SCL, Jenkins SC, Palmer SM, Balfour KM, Rowe BR, Farrall M, Barnett AH, Bain SC, Todd JA.** A genome-wide search for human type 1 diabetes susceptibility genes. *Nature* 1994; 371: 130-136
- DeStephano F, Mullooly JP, Okora CA, Chen RT, Marcey SM, Ward JI, Vadheim CM, Black SB, Shinefield HR, Davis RL, Bohlke K.** *Pediatrics* 2001; 108: 112-116
- Dodson G, Steiner D.** The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Current Opinion in Structural Biology* 1998; 8: 189-194
- Dunstan JA, Mori TA, Barden A, Beilin LJ, Holt PG, Calder PC, Taylor AL, Prescott SL.** Effects of n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation in pregnancy on maternal and fetal erythrocyte fatty acid composition. *European Journal of Clinical Nutrition* 2004a; 58: 429-437

- Dunstan JA**, Roper J, Mitoulas L, Hartmann PE, Simmer K, Prescott SL. The effect of supplementation with fish oil during pregnancy on breast milk immunoglobulin A, soluble CD14, cytokine levels and fatty acid composition. *Clin Exp Allergy* 2004b; 34: 1237-1242
- Dutta-Roy AK**. Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (suppl): 315-322
- El Boustani S**, Causse JE, Descomps B, Monnier L, Mendy F, de Paulet AC. Direct In Vivo Characterization of Delta 5 Desaturase Activity in Humans by Deuterium Labeling : Effect of Insulin. *Metabolism* 1989; 38: 315-321
- El-Hashimy M**, Angelico MC, Martin BC, Krolewski AS and Warram JH. Factors modifying the risk of IDDM in offspring of an IDDM parent. *Diabetes* 1995; 44: 295-299
- Elliman D**. Vaccination and type 1 diabetes mellitus. *BMJ* 1999; 318: 1159-1160
- Endres S**, Ghorbani R, Kelly VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, Cannon JG, Rogers TS, Klempner MS, Weber PC, and et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med* 1989; 320: 265-271
- Eurodiab ACE Study Group**. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 2000; 355: 873-876
- FAO/WHO**: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Fifty-ninth meeting, Geneva 2002
- Farquhar JW**, Ahrens EH. Effects of Dietary Fats on Human Erythrocyte Fatty Acid Patterns. *J Clin Invest* 1963; 42: 675-685
- Feunekes GIJ**, van Staveren WA, De Vries JHM, Burema J, Hautvast JGAJ. Relative and biomarker-based validity of a food-frequency questionnaire estimating intake of fats and cholesterol. *Am J Clin Nutr* 1993; 58: 489-496
- Field LL**, Bonnevie-Nielsen V, Pociot F, Lu S, Nielsen TB, Beck-Nielsen H. OAS1 Splice Site Polymorphism Controlling Antiviral Enzyme Activity Influences Susceptibility to Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 1588-1591
- Filippi C**, von Herrath M. How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cellular Immunology* 2005; 233: 125-132
- Folch J**, Lees M, Stanly GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem* 1957; 226:497-509.
- Foreman-van Drongelen MMHP**, Al MDM, van Houwelingen AC, Blanco Carlos, Hornstra G. Comparison between the essential fatty acid status of preterm and full-term infants, measured in umbilical vessel walls. *Early Human Development* 1995; 42: 241-251

- Foulis AK**, Liddle CN, Farquharson MA, Richmond JA, Weir RS. The histopathology of the pancreas in Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a 25-year review of deaths in patients under 20 years of age in the United Kingdom. *Diabetologia* 1986; 29: 267-274
- Funda DP**, Kaas A, Tlaskalova-Hogenova H, Buschard K. Gluten-free Diet Prevents Diabetes in NOD Mice. *Diabetes Metab Rev* 1999; 15: 323-327
- Füchtenbusch M**, Ziegler AG. Umweltfaktoren in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes. *Diabetes und Stoffwechsel* 1995; 4: 369-377
- Fuhrman BJ**, Barba M, Krogh V, Micheli A, Pala V, Lauria R, Chajes V, Riboli E, Sieri S, Berrino F, Muti P. Erythrocyte Membrane Phospholipid Composition as a Biomarker of Dietary Fat. *Ann Nutr Metab* 2006; 50: 95-102
- Galler A**, Kapellen T, Stange T, Rothe U, Kunath H, Näge A, Vogel C, Kiess W und Gesundheitsämter Aue, Dresden, Freiberg, Leipzig, Vogtlandkreis, Weißeritzkreis, Zittau und alle Teilnehmer des Sächsischen Kinder-Diabetes-Registers. Epidemiologie des Diabetes mellitus im Kindesalter: Daten aus dem Sächsischen Kinder-Diabetes-Register. *Kinder-und Jugendmedizin* 2005; 4: 201-205
- Geppert J**, Kraft V, Demmelmaier H, Koletzko B. Docosahexaenoic Acid Supplementation in Vegetarians Effectively Increases Omega-3 Index: A Randomized Trial. *Lipids* 2005; 40: 807-814
- Gepts W**. Pathologic Anatomy of the Pancreas in Juvenile Diabetes Mellitus. *Diabetes* 1965; 14: 619-633
- Gerstein HC**. Cow's Milk Exposure and Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1994, 17: 13-19
- Ghebremeskel K**, Thomas B, Lowy C, Min Y, Crawford MA. Type 1 diabetes compromises plasma arachidonic and docosahexaenoic acid in newborn babies. *Lipids* 2004; 39: 335-342
- Gianani R**, Eisenbarth GS: The Stage of type 1 diabetes: 2005. *Immunological Reviews* 2005, 204: 232-249
- Glatz JFC**, Soffers AEMF, Katan MB. Fatty acid composition of serum cholesteryl-esters and erythrocyte membranes as indicators of linoleic acid intake in man. *Am J Clin Nutr* 1989; 49: 269-276
- Godley PA**, Campbell MK, Miller C, Gallagher P, Martinson FE, Mohler JL, Sandler RS. Correlation between Biomarkers of Omega-3 Fatty Acids Consumption and Questionnaire Data in African American and Causcasian United States Males with and without Prostatic Carcinoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1996; 5: 115-119

- Granot E**, Golan D, Berry EM: Breast-fed and formula-fed infants do not differ in immunocompetent cell cytokine production despite differences in cell membrane fatty acid composition. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1202-1205
- Graves PM**, Barriga KJ, Norris JM, Hoffman MR, Yu L, Eisenbarth GS, Rewers M. Lack of Association Between Early Childhood Immunizations and  $\beta$ -Cell Autoimmunity. *Diabetes Care* 1999; 22: 1694-1697
- Green J**, Casabonne D, Newton R. Coxsackie B virus serology and Type 1 diabetes mellitus: a systematic review of published case-control studies. *Diabetic Medicine* 2004; 21: 507-514
- Hägglöf B**, Hallmans G, Holmgren G, Ludvigsson J, Falkmer S. Prospektive and retrospektive studies of zinc concentrations in serum, blood clots, hair and urine in young patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Endocrinol.* 1983; 102: 88-95
- Haglund B**, Ryclenberg K, Selinus O, Dahlquist G. Evidence of a Relationship Between Childhood-Onset Type 1 Diabetes and Low Groundwater Concentration of Zinc. *Diabetes Care* 1996; 19: 873-875
- Harrison LC**, Honeyman MC. Cow's Milk and Type 1 Diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 1501-1507
- Haskins K**, McDuffie M. Acceleration of Diabetes in Young NOD Mice with a CD4+ Islet-Specific T Cell Clone. *Science* 1990; 249: 1433-1436
- Henderson RA**, Jensen RG, Lammi-Keefe CJ, Ferris AM, Dardick KR. Effect of fish oil on the fatty acid composition of human milk and maternal and infant erythrocytes. *Lipids* 1992; 27: 863-869
- Hilbig A**, Kersting M, Sichert-Hellert W. Measured consumption of tap water in German infants and young children as background for potential health risk assessments: data of the DONALD Study. *Food Additives and Contaminants* 2002; 19: 829-836
- Ho E**, Quan N, Tsai YH, Lai W, Bray TM. Dietary Zinc Supplementation Inhibits NF $\kappa$ B Activation and Protects Against Chemically Induced Diabetes in CD1 Mice. *Exp Biol Med* 2001; 226: 103-111
- Honeyman M**. How robust is the evidence for viruses on the induction of type 1 diabetes? *Current Opinion in Immunology* 2005; 17: 616-623
- Hornstra G**. Essential fatty acids in mothers and their neonates. *Am J Clin Nutr* 2000, 71 (Suppl): 1262-1269
- Hughes DA**, Pinder AC, Piper Z, Johnson IT, Lund EK. Fish oil supplementation inhibits the expression of major histocompatibility complex class II molecules and adhesion molecules on human monocytes. *Am J Clin Nutr.* 1996; 63: 267-272

- Hughes DA**, Southon S, Pinder AC. (n-3) Polyunsaturated fatty acids modulate the expression of functionally associated molecules on human monocytes in vitro. *J Nutr* 1996; 126: 603-610
- Hughes DA**, Pinder AC. N-3 polyunsaturated fatty acids inhibit the antigen-presenting function of human monocytes. *Am J Clin Nutr* 2000; 171 [Suppl]: 357S-360S
- Hummel M**, Füchtenbusch M, Schenker M, Ziegler AG. No Major Association of Breast-Feeding, Vaccination, and Childhood Viral Diseases With Early Islet Autoimmunity in the German BABYDIAB Study. *Diabetes Care* 2000; 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* 2000; 43: 1005-1011
- Hummel M**, Bonifacio E, Schmid S, Walter M, Knopff A, Ziegler AG. Brief Communication: Early Appearance of Islet Autoantibodies Predicts Childhood Type 1 Diabetes in Offspring of Diabetic Parents. *Ann Intern Med* 2004; 140: 882-886
- Hummel S**, Winkler C, Schoen S, Knopff A, Marienfeld S, Bonifacio E, Ziegler AG. Breast-feeding habits in families with type 1 diabetes. *Diabetic Medicine* 2007; 24: 671-676
- Hyöty H**, Taylor KW. The role of viruses in human diabetes. *Diabetologia* 2002; 45: 1353-1361
- Hyppönen E**, Läärä E, Reunanen A, Järvelin AR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *The Lancet* 2001; 3: 1500-1503
- Igal RA**, Mandon EC, de Gomez Dumm INT. Abnormal metabolism of polyunsaturated fatty acids in adrenal glands of diabetic rats. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1991; 77: 217-227
- Innis SM**. Plasma and red blood cell fatty acid values as indexes of essential fatty acids in the developing organs of infants fed with milk or formula. *J Pediatr* 1992; 120: S78-86
- Innis SM**, Nelson CM, Rioux MF, King DJ. Development of visual acuity in relation to plasma and erythrocyte  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 fatty acids in healthy term gestation infants. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 347-352
- Isbir T**, Tamer L, Taylor A, Isbir M. Zinc, copper and magnesium status in insulin-dependent diabetes. *Diabetes Res.* 1994, 26: 41-45
- Jackson MJ**, Lammi-Keefe CJ, Jensen RG, Couch SC, Ferries AM. Total lipid and fatty acid composition of milk from women with and without insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 353-361



- Jones. RG**, Ilic V, Williamson DH. Regulation of lactating-rat mammary-gland lipogenesis by insulin and glucagon in vivo. The role and site of action of insulin in the transition to the starved state. *Biochem. J.* 1984; 223: 345-351
- Kasper H.** Ernährungsmedizin und Diätetik. Urban und Fischer Verlag München, Jena, 2000
- Katz JD**, Benoist C, Mathis D. T Helper Cell Subsets in Insulin-Dependent Diabetes. *Science* 1995; 268: 1185-1188
- Kaprio J**, Tuomilehto J, Koskenvuo M, Rommanov K, Reumanen A, Eriksson J, Stengard J, Kesäniemi YA. Concordance for Type 1 (insulin-dependent) and Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. *Diabetologia* 1992; 35. 1060-1067
- Karvonen M**, Tuomilehto J, Libman I, LaPorte R. A review of the recent epidemiological data on the worldwide incidence of Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1993; 36: 883-892
- Karvonen M**, Vilkk-Kajander M, Moltchanova E, Libman I, LaPorte R, Tuomilehto J. Incidence of Childhood Type 1 Diabetes Worldwide. *Diabetes Care* 2000; 23: 1516-1526
- Karvonen M**, Cepaitis Z, Tuomilehto J. Association between type 1 diabetes and Haemophilus influenzae type b vaccination: birth cohort study. *BMJ* 1999; 318: 1169-1172
- Kimpimäki T**, Kulmala P, Savola K, Kupila A, Korhonen S, Simell T, Ilonen J, Simell O and Knip M. Natural History of  $\beta$ -Cell Autoimmunity in Young Children with Increased Genetic Susceptibility to Type 1 Diabetes Recruited from the General Population. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4572-4579
- Knip M**, Akerblom HK. Environmental factors in the pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999, 107 (Suppl 3) S93-S100
- Knip M**, Veijola R, Virtanen SM, Hyöty H, Vaarala O, Akerblom HK. Environmental Triggers and Determinants of Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2005; 54 (Suppl. 2): 125-136
- Koletzko B**, Agostoni C, Carlson SE, Clandini T, Hornstra G, Neuringer M, Uauy R, Yamashiro Y and Willats P. Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatr* 2001; 90: 460-464
- Koletzko B**, Rodriguez-Palermo M. Polyunsaturated Fatty Acids in Human Milk and Their Role in Early Infant Development. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 1999; 4: 269-284
- Kostraba JN**, Gay EC, Rewers M, Hamman R. Nitrate Levels in Community Drinking Waters and Risk of IDDM. An ecological analysis. *Diabetes Care* 1992; 15: 1503-1508

- Kostraba JN**, Cruickshanks KJ, Lawler-Heavner J, Jobim LF, Rewers MJ, Gay EC, Chase P, Klingensmith G, Hamman RF. Early Exposure to Cow's Milk and Solid Foods in Infancy, Genetic Predisposition and Risk of IDDM. *Diabetes* 1993; 42: 288-295
- Kovasc A**, Funke S, Marosvöltgyi T, Burus I, Decsi T: Fatty Acids in Early Human Milk after Preterm and Full-Term Delivery. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005; 41: 454-459
- Krishna Mohan I**, Das UN. Prevention of Chemically Induced Diabetes Mellitus in Experimental Animals by Polyunsaturated Fatty Acids. *Nutrition* 2001; 17: 126-151
- Kumar SK**, Das UN. Effect of prostaglandins and their precursors on the proliferation of human lymphocytes and their secretion of tumor necrosis and various interleukins. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1994; 50: 331
- Kyvik KO**, Green A, Svendsen A, Mortensen K. Breast Feeding and the Development of Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetic Medicine* 1992; 9: 233-235
- Kyvik KO**, Green A, Beck-Nielsen H. Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. *BMJ* 1995; 311: 913-917
- Laitinen S**, Virtanen SM, Rasanen L, Penttila PL. Calculated dietary intakes of nitrate and nitrite by young finns. *Food Addit Contam.* 1993; 10: 469-477
- Lakin V**, Haggarty P, Abramovich DR, Ashton J, Moffat CF, McNeill G, Danielian PJ, Grubb D. Dietary intake and tissue concentration of fatty acids in omnivore, vegetarian and diabetic pregnancy. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 1998; 59: 209-220
- Lammi N**, Karvonen M, Tuomilehto J. Do microbes have a causal role in type 1 diabetes? *Med Sci Monit* 2005; 11: 63-69
- Larque E**, Demmelmair H, Berger B, Hasbargen U, Koletzko B. In vivo investigation of the placental transfer of 13 C-labeled fatty acids in humans. *J. Lipid Res.* 2003; 44: 49-55
- Leaf AA**, Leighfield AJ, Costeloe KL, Crawford MA. Long chain polyunsaturated fatty acids and fetal growth. *Early Human Development* 1992; 30: 183-191
- Liblau RS**, Singer SM, McDevitt HO. Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunology Today* 1995; 16: 34-38
- Linn T**, Noke M, Woehrle M, Kloer HU, Hammes HP, Litzlbauer D, Bretzel RG, Federlin K. Fish Oil-Enriched Diet and Reduction of Low-Dose Streptozocin-Induced Hyperglycemia – Inhibition of Macrophage Activation. *Diabetes* 1989; 38: 1402-11

- Litherland SA**, Xie XT, Hutson AD, Wasserfall C, Whittaker DS, She JX, Hofig A; Dennis MA, Fuller K, Cook R, Schatz D, Moldawer LL, Clare-Salzler MJ. Aberrant prostaglandin synthase 2 expression defines an antigen-presenting cell defect for insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1999; 104:515-523
- Löffler G**, Petrides PE. *Biochemie und Pathobiochemie*. 6. Auflage, Berlin: Springer Verlag, 1998
- Lorenzen T**, Pociot F, Stilgren L, Kristiansen OP, Johannesen J, Olsen PB, Walmar A, Larsen A, Albrechtsen NC, Eskildsen PC, Andersen OO, Nerup J. Predictors of IDDM recurrence risk in offspring of Danish IDDM patients. *Diabetologia* 1998; 41: 666-673
- Lucke FK**. Assessment of the technological necessity of the use of nitrite and nitrate in the manufacture of meat products. *Fleischwirtschaft* 1999; 79: 96-98
- Makrides M**, Neumann MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA. Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 189-199
- Mathieu C**, Gysemans C, Giulietti A, Bouillon R. Vitamin D and diabetes. *Diabetologia* 2005; 48 : 1247-1257
- Mathieu C**, Waer M, Laureys J, Rutgeerts O, Bouillon R. Prevention of autoimmune diabetes in NOD mice by 1,25 dihydroxyvitamin D3. *Diabetologia* 1994; 37 : 552-558
- McKnight GM**, Duncan CW, Leifert S, Golden MH. Dietary nitrate in man: friend or foe? *British Journal of Nutrition* 1999; 81: 349-358
- Mehnert H**, Standl E, Usadel KH, Häring HU (Hrsg.): *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Thieme Verlag, Stuttgart 2003
- Meloni T**, Marinaro AM, Mannazzu AC, Ogana A, La Vecchia C, Negri E, Colombo C. IDDM and Early Infant Feeding, Sardinian case-control study. *Diabetes Care* 1997; 20: 340-342
- Meydani SN**, Lichtenstein AH, Cornwall S, Meydani M, Goldin BR, Rasmussen H, Dinarello CA, Schaefer EJ. Immunologic effects of National Cholesterol Education Panel Step-2 diets with and without fish-derived n-3 fatty acid enrichment. *J Clin Invest* 1993; 92: 105-103
- Michaelis D**, Jutzi E, Heinke P. 30jähriger Inzidenz- und Prävalenztrend des juvenilen Typ-1-Diabetes in der ostdeutschen Bevölkerung. *Diabetes und Stoffwechsel* 1993; 2: 245-250
- Min Y**, Lowy C, Ghebremeskel K, Thomas B, Offley-Shore B, Crawford M. Unfavorable effect of type 1 and type 2 diabetes on maternal and fetal essential fatty acid status: a potential marker of fetal insulin resistance. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 1162-1168

- Minda H**, Molnar S, Burus I, Decsi T. Effect of different types of feeding on fatty acid composition of erythrocyte membrane lipids in full-term infants. *Acta Paediatr* 2002; 91:874-81
- Minda H**, Kovacs A, Funke S, Szasz M, Burus I, Molnar S, Marosvölgyi T, Decsi T: Changes of Fatty Acid Composition of Human Milk during the First Month of Lactation: A-Day-to-Day Approach in the First Week. *Ann Nutr Metab* 2004; 48: 202-209
- Mirvish SS**. Effects of Vitamins and E on N-Nitroso-Compound Formation, Carcinogenesis, and Cancer. *Cancer* 1986; 58: 1842-1850
- Moltchanova E**, Rytönen M, Kousa A, Taskinen O, Tuomilehto J, Karvonen M for the Spat Study Group and the Finnish Childhood Diabetes Registry Group. Zinc and nitrate in the ground water and the incidence of Type 1 diabetes in Finland. *Diabetic Medicine* 2004; 21: 256-261
- Molvig J**, Pociot F, Worsaae H, Wogensen D, Baek L, Christensen P, Mandrup-Poulsen T, Andersen K, Madsen P, Dyerberg J, Nerup J. Dietary supplementation with n-3-polyunsaturated fatty acids decreases mononuclear cell proliferation and interleukine-1beta content but not monokine secretion in healthy and insulin-dependent diabetic individuals. *Scand J Immunol* 1991; 34: 399-410
- Munday MR**, Hardie DG. The role of acetyl-CoA carboxylase phosphorylation in the control of mammary gland fatty acid synthesis during the starvation and re-feeding of lactating rats. *Biochem. J.* 1986; 237: 85-91
- Naserke HE**, Zieger 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
- Neu A**, Willisch A, Eehalt S, Kehrer M, Hub R, Schwarze CP, Ranke MB. Prävalenz und Altersverteilung des Diabetes mellitus im Kindesalter in Deutschland. *Monatschrift Kinderheilkunde* 2002; 150: 196-200
- Norris JM**, Beaty B, Klingensmith G, Yu L, Hoffman M, Chase HP, Erlich HA, Hamman RF, Eisenbarth GS, Rewers M. Lack of association between early exposure to cow's milk protein and beta-cell autoimmunity. Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY) *JAMA* 1996; 276: 609-614
- Norris JM**, Barriga K, Klingensmith G, Hoffmann M, Eisenbarth GS, Erlich HA, Rewers M. Timing of Initial Cereal Exposure in Infancy and Risk of Islet Autoimmunity. *JAMA* 2003; 290: 1713-1720
- Norris JM**, Yin X, Lamb MM, Barriga K, Seifert J, Hoffmann M, Orton HD, Baron AE, Clare-Salzler M, Chase HP, Szabo NJ, Erlich H, Eisenbarth GS, Rewers M. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Intake and Islet Autoimmunity in Children at Increased Risk for Type 1 Diabetes. *JAMA* 2007, 298 (12): 1420-1428

- Not T**, Tommasini A, Tonini G, Buratti M, Pocceco M, Tortul C, 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 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2001 ; 44 : 151-155
- Nwachcuku N**, Gerba CP. Emerging waterborne pathogens: can we kill them all? *Current Opinion in Biotechnology* 2004; 15: 175-180
- Ohly P**, Dohle C, Abel J, Seissler J, Gleichmann H. Zinc sulphate induces metallothionein in pancreatic islet of mice and protects against diabetes induced by multiple low doses of streptozotocin. *Diabetologia* 2000; 43: 1020-1030
- Olmos P**, A'Hern R, Heaton DA, Millward BA, Risley D, Pyke DA, Leslie RD. The significance of the concordance rate for type-1 (insulin-dependent) diabetes in identical twins. *Diabetologia* 1988, 31: 747-750
- Onkamo P**, Väänänen S, Karvonen M, Tuomilehto J. Worldwide increase in incidence of Type 1 diabetes-the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia* 1999; 42: 1395-1403
- Orton HD**, Szabo NJ, Clare-Salzler M, Norris JM. Comparison between omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid intakes as assessed by a food frequency questionnaire and erythrocyte membrane fatty acid composition in young children. *European Journal of Clinical Nutrition* 2007, 1-6
- Paronen J**, Knip M, Savilahti E, Virtanen SM, Ilonen J, Akerblom HK, Vaarla O and the Finnish Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk Study Group. Effect of Cow's Milk Exposure and Maternal Type 1 Diabetes on Cellular and Humoral Immunization to Dietary Insulin in Infants at Genetic Risk for Type 1 Diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 1657-1665
- Parslow RC**, McKinney PA, Law GR, Staines A, Williams R, Bodansky HJ. Incidence of childhood diabetes mellitus in Yorkshire, northern England, is associated with nitrate in drinking water: an ecological analysis. *Diabetologia* 1997; 40: 550-556
- Paul WE**, Seder RA. Lymphocyte Responses and Cytokines. *Cell* 1994; 76: 241-251
- Peng H**, Hagopian W. Environmental factors in the development of Type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord* 2006; 7: 149-162
- Penttilä PL**, Räsänen L, Kimppa S. Nitrate, nitrite, and N-nitros compounds in Finnish foods and the estimation of the dietary intakes. *Z Lebensm Unters Forsch.* 1990; 190: 336-340
- Perez-Bravo F**, Carrasco E, Gutierrez-Lopez MD, Martinez MT, Lopez G, Garcia de los Rios M. Genetic predisposition and environmental factors leading to the development of insulin-dependent diabetes mellitus in Chilean children. *J Mol Med* 1996; 74: 105-109

- Peterson A**, Stoltze S. Nitrate and nitrite in vegetables on the Danish market: content and intake. *Food Addit Contamin.* 1999; 16: 291-299
- Poppitt SD**, Kilmartin P, Butler P, Keogh GF. Assessment of erythrocyte phospholipid fatty acid composition as a biomarker for dietary MUFA, PUFA or saturated fatty acid intake in a controlled cross-over intervention trial. *Lipids in Health and Disease* 2005; 4:
- Putnam JC**, Carlson SE, DeVe PW, Barness LA: The effect of variations in dietary fatty acids on the fatty acids composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in human infants. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 106-114
- Pugliese A**, Miceli D. The insulin gene in diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2002; 18: 13-25
- Rakieten N**, Rakieten ML, Nadkarni MV. Studies on diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep* 1963; 29: 91-98
- Raz I**, Havivi E. Trace elements in blood cells of diabetic subjects. *Diabetes Res.* 1989, 10: 21-24
- Renooij W**, van Golde LMG, Zwaal RFG, Roelofsen B, van Deenen LLM. Preferential Incorporation Of Fatty Acids At The Inside Of Human Erythrocyte Membranes. *Biochim Biophys Acta* 1974; 363: 287-292
- Renooij W**, van Golde LMG. The Transposition Of Molecular Classes Of Phosphatidylcholine Across The Rat Erythrocyte Membrane And Their Exchange Between the Red Cell Membrane and Plasma Lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1977; 470: 465-474
- Richter W**, Merten T, Schoel B, Muir P, Ritzkowsky A, Scherbaum WA, Boehm BO. Sequence Homology of the Diabetes-associated Autoantigen Glutamate Decarboxylase with Coxsackie B4-2C Protein and Heat Shock Protein 60 Mediates No Molecular Mimicry of Autoantibodies. *J. Exp. Me.* 1994; 180: 721-726
- Robinson AM**, Girard JR, Williamson DH. Evidence for a Role of Insulin in the Regulation of Lipogenesis in Lactating Rat Mammary Gland. *Biochem. J.* 1978; 176: 343-346
- Rosenbauer J**, Icks A, Schmitter D, Giani G. Incidence of childhood Type 1 diabetes mellitus is increasing at all ages in Germany. *Diabetologia* 2000; 45: 457-458
- Salo RJ**, Cliver DO. Effect of Acid pH, Salts, and Temperature of the Infectivity and Physical Integrity of Enteroviruses. *Archives of Virology* 1976; 52: 269-282
- Scanlan RA**. Formation and occurrence of nitrosamines in foods. *Cancer Research* 1983; 43: 2435-2440

- Scherz H**, Kirchoff E. Trace elements in foods: Zinc contents of raw foods-A comparison of data originating from different geographical regions of the world. *Journal of Food Composition and Analysis* 2006; 19: 420-433
- 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; 111: 108-118
- Schmid S**, Buuck D, Knopff A, Bonifacio E, Ziegler AG BABYDIET, a feasibility study to prevent the appearance of islet autoantibodies in relatives of patients with Type 1 diabetes by delaying exposure to gluten. *Diabetologia* 2004b; 47:1130-1131
- Schrezenmeir J**, Jagla A. Milk and Diabetes. *Journal of the American College of Nutrition* 2000; 19: 176-190
- Sjogren RE**, Gibson MJ. Bacterial Survival in a Dilute Environment. *Appl. Environ. Microbiol.*1981; 41 (6): 1331-1336
- Steck AK**, Bugawan TL,Valdes AM, Emery LM, Blair A, Norris JM, Redondo MJ, Babu SR, Erlich HA, Eisenbarth GS, Rewers MJ. Association of Non-HLA Genes With Type 1 Diabetes Autoimmunity. *Diabetes* 2005; 54: 2482-2486
- Sprecher H**, Luthria DL, Mohammed BS, Baykousheva SP, Reevaluation of the pathways for the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids. *J. Lipid Res.* 1995; 36: 2471-2477
- Stene LC**, Ulriksen J, Magnus P, Joner G. Use of cod liver oil during pregnancy associated with lower risk of Type 1 diabetes in the offspring. *Diabetologia* 2000; 43: 1093-98
- Stene LC**, Hongve D, Magnus P, Rønningen KS; Joner G. Acidic Drinking Water and Risk of Childhood-Onset Type 1 Diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25: 1534-1538
- Stene LC**, Joner, G and the Norwegian Childhood Diabetes Study Group Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1128-1134
- Tannenbaum SR**, Wishnok JS, Leaf CD. Inhibition of nitrosamine formation by ascorbic acid. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 247S-250S
- Tayler CG**. Zinc, the pancreas, and diabetes: Insights from rodent studies and future directions. *BioMetals* 2005; 18: 305-312
- The DIAMOND Project Group**. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabetic Medicine* 2006, 23: 857-866

- The EURODIAB Substudy 2 Study Group.** Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42: 51-54
- Tian J, Lehmann PV, Kaufman DL.** T Cell Cross-reactivity between Coxsackievirus and Glutamate Decarboxylase Is Associated with a Murine Diabetes Susceptibility Allele. *J. Exp. Med.* 1994; 180: 1979-1984
- Tian J, Lehmann PV, Kaufman DL.** Determinant Spreading of T Helper Cells 2 (Th2) Responses to Pancreatic Islet Autoantigens. *J. Exp. Med.* 1997; 186: 2039-2043
- Tilvis RS, Miettinen TA.** Fatty acid compositions of serum lipids, erythrocytes, and platelets in insulin-dependent diabetic women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985; 61: 741-745
- Vaarla O, Knip M, Paronen J, Hämäläinen AM, Muona P, Väättäinen M, Ilonen J, Simell O, Aklerblom HK.** Cow's Milk Formula Feeding Induces Primary Immunization to Insulin in Infants at Genetic Risk for Type 1 Diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 1339-1394
- Van Beusekom CM, Zeegers TA, Martini IA, Velvis HJR, Visser GHA, van Doormaal JJ, Muskiet FAJ.** Milk of patients with tightly controlled insulin-dependent diabetes mellitus has normal macronutrient and fatty acid composition. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 938-934
- Van Houwelingen AC, Foreman-van Drongelen, Nicolini U, Nicolaidis KH, Al MDM, Kester ADM, Hornstra G.** Essential fatty acid status of fetal plasma phospholipids: similar to postnatal values obtained at comparable gestational ages. *Early Human Development* 1996; 46: 141-142
- Van Maanen JMS, Albering HJ, de Kok TMCM, van Breda SGJ, Curfs DMJ, Vermeer ITM, Ambergen AW, Wolffenbuttel BHR, Kleinjans JCS, Maarten H.** Does the Risk of Childhood Diabetes Mellitus Require Revision of the Guideline Values for Nitrate in Drinking Water? *Environ Health Prospect* 2000; 108: 457-461
- Verge CF, Howard NJ, Irwing L, Simpson JM, Mackerras D, Silink M.** Environmental Factors in Childhood IDDM. *Diabetes Care* 1994; 17:1381-1389
- Verkleij AJ, Zwaal RFA, Roelofsen B, Comfurius P, Kastelijn D, van Deenen LLM.** The Asymmetric Distribution Of Phospholipids In The Human Red Cell Membrane. *Biochim Biophys Acta* 1973; 323: 178-193
- Virtanen SM, Jaakkola L, Räsänen L, Ylönen K, Aro A, Lounamaa R, Aklerblom HK, Tuomilehto J and the Childhood Diabetes in Finland Study Group.** Nitrate and Nitrite Intake and the Risk for Type 1 Diabetes in Finnish Children. *Diabetic Medicine* 1994; 11: 656-662
- Virtanen SM, Knip M.** Nutritional risk of  $\beta$  cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1053-1067



- Virtanen SM**, Kenward MG, Erkkola M, Kautiainen S, Kronberg-Kiplilä C, Hakulinen T, Ahonen S, Uusitalo L, Niinistö S, Veijola R, Simell O, Ilonen J, Knip M. Age of introduction of new foods and advanced beta cell autoimmunity in young children with HLA-conferred susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetologia* 2006; 49: 1512-1521
- Ventura A**, Magazzu G, Greco L for the SIGEP Study Group for autoimmune disorders in celiac disease. Duration of Exposure to Gluten and Risk for Autoimmune Disorders in Patients With Celiac Disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 297-303
- Vlaardingerbroek H**, Hornstra G. Essential fatty acids in erythrocyte phospholipids during pregnancy and at delivery in mothers and their neonates: comparison with plasma phospholipids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 71: 363-374
- Voigt M**, Schneider KTM, Jahrig K. Analysis of a 1992 birth sample in Germany. New percentile values of the body weight of newborn infants. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* 1996; 56:550-558
- Walter M** et al. IDDM2/insulin VNTR modifies risk conferred by IDDM1/HLA for development of type 1 diabetes and associated autoimmunity. *Diabetologia* 2003, 46: 712-720
- Walter RM** Uriu-Hare JY, Olin KL, Oster MH, Anawalt BD, Critchfield JW, Keen CL. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1991; 14: 1050-1056
- Warram JH**, Krolewski AS, Gottlieb MS, and Kahn CR. Differences in risk of insulin-dependent diabetes in offspring of diabetic mothers and diabetic fathers. *N Engl J Med* 1984; 311: 149-152
- Wasmuth HE**, Kolb H. Cow's milk and immune-mediated diabetes. *Proceeding of the Nutrition Society* 2000; 59: 573-579
- Wilander E**, Gunnarsson R. Diabetogenic effects of N-nitrosomethylurea in the chinese hamster. *Acta Path Microbiol Scand Sect A* 1975; 83: 206-212
- Willatts P**, Forsyth JS, DiModugno MK, Varma S, Colvin M. Effect of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant formula on problem solving at 10 months of age. *The Lancet* 1998; 352: 688-691
- World Health Organization**. Indicators for Assessing Breastfeeding Practices. Geneva, Switzerland: WHO/CDD/SER91; 1991
- Yaqoob P**. Fatty acids and the immune system: from basic science to clinical applications. *Proceedings of the Nutrition Science* 2004; 63: 89-104
- Zawalich WS**, Diaz VA. Interleukin-1 inhibits insulin secretion from isolated perfused rat islet. *Diabetes* 1986; 35: 1119-1123

- Zhang P**, Smith r, Chapkin RS, McMurray DN. Dietary (n-3) Polyunsaturated Fatty Acids Modulate Murine Th1/Th2 Balance toward the Th2 Pole by Suppression of Th1 Development. *J Nutr.* 2005; 135: 1745-1751
- Zhao HX**, Mold MD, Stenhouse EA, Bird SC, Wright DE, Demaine AG, Millward BA. Drinking water composition and childhood-onset Type 1 diabetes mellitus in Devon and Cornwall, England. *Diabetic Medicine* 2001; 18: 709-7017
- Ziegler AG**, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody Appearance and Risk for Development of Childhood Diabetes in Offspring of Parents with Type 1 Diabetes. *Diabetes*; 1999: 460-468
- Ziegler AG**, Hummel M, Scherbaum WA: Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese des Typ-1 Diabetes. In Mehnert H, Standl E, Usadel KH, Häring HU (Hrsg): *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Thieme Verlag, Stuttgart 2003
- Ziegler AG**, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early Infant Feeding and Risk of Development Type 1 Diabetes-Associated Autoantibodies. *JAMA* 2003; 290: 1721-1728

## Publikationsliste

- Winkler C**, Hummel S, Ziegler AG, Koletzko B. Die Rolle der Omega-3 Fettsäuren im Immunsystem, der frühkindlichen Ernährung und Schwangerschaft. Aktuelle Ernährungsmedizin 2006; 31: 322-327
- Winkler C**, Mollenhauer U, Hummel S, Bonifacio E, Ziegler AG. Exposure to Environmental Factors in Drinking Water: Risk of Islet Autoimmunity and Type 1 Diabetes - the Babydiab Study. (submitted)
- Winkler C**, Hummel S, Pflüger M, Ziegler AG, Geppert J, Demmelmair H, Koletzko B. The effect of maternal T1DM on the fatty acid composition of erythrocyte phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in infants during early life: Results from the BABYDIET study. (submitted)
- Hummel S, **Winkler C**, Schoen S, Knopff A, Marienfeld S, Bonifacio E, Ziegler AG. Breastfeeding habits in families with Type 1 diabetes. Diabetic Medicine 2007; 24: 671-676
- Winkler C**, Hummel S, Mollenhauer U, Ziegler AG. Bedeutung der Trinkwasserqualität auf die Entstehung von Inselautoimmunität und Typ 1 Diabetes. Posterpräsentation auf der 40. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft in Berlin, 2005
- Winkler C**, Hummel S, Marienfeld S, Schoen S, Rachl M, Geppert J, Demmelmair H, Koletzko B, Ziegler AG. Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) supply through breastfeeding is not affected by maternal type 1 diabetes (T1D). Posterpräsentation auf der 67. Jahrestagung der American Diabetes Association in Chicago, 2007

## Danksagung

Abschließend möchte ich die Gelegenheit nutzen all jenen zu danken, die diese Arbeit unterstützt und zu ihrem Gelingen beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Berthold Koletzko möchte ich herzlich danken, dass er als mein Doktorvater die Durchführung dieser Dissertation ermöglichte sowie für die Beurteilung meiner Arbeit. Bei ihm und den Mitarbeitern des „Stoffwechsellabors“ des Dr. von Haunerschen Kinderspitals München möchte ich mich besonders für die Unterstützung und Hilfe bei den Analysen der Fettsäurezusammensetzung der Erythrozytenmembran bedanken. Insbesondere gilt ein großes Dankeschön Frau Dr. Julia Geppert, Monika Rahl und Dr. Hans Demmelmaier für die Einführung in die Analysen und die stets tolle Unterstützung bei allen Fragestellungen und Problemen.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Anette-G. Ziegler dafür bedanken, dass sie mich in die Arbeitsgruppe Immunologie und Prävention am Institut für Diabetesforschung aufgenommen und mir dieses überaus interessante Thema überlassen hat. Das mir stets entgegengebrachte Vertrauen sowie ihre zahlreichen Ratschläge und unermüdlichen Hilfestellungen waren für die Durchführung und Erstellung dieser Arbeit von größtem Nutzen. Weiterhin möchte ich mich für die Möglichkeiten bedanken, die Forschungsergebnisse auf nationaler und internationaler Ebene zu präsentieren.

Besonders danken möchte ich auch Frau Dr. Sandra Hummel für die Einführung in das Thema, für ihre guten Ratschläge sowie für ihre Hilfe bei der Erstellung von Publikationen und natürlich für die Korrektur der Arbeit.

Bei Frau Annette Knopff möchte ich mich für die Einführung in der Probenverarbeitung sowie für ihre Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei allen Fragen rund um das Labor bedanken. Frau Ulrike Mollenhauer danke ich für ihre tatkräftige Unterstützung und Vorleistungen bei der Sammlung der Trinkwasseranalysen.

Nicht zu letzt gilt ein besonderer Dank Frau Dipl. oec. troph. Daniela Müller, Frau Dipl. oec. troph. Anja Mayr, Frau Dipl. oec. troph. Stephanie Klein, Frau Maren Pflüger und Frau Dr. rer. nat. Lydia Pan für die freundschaftliche Unterstützung während der gesamten Zeit, für die aufmunterten Worte, für viele stets offene Ohren, Ratschläge und Hilfestellungen, unzählige fachliche sowie privaten Gespräche.

Mein besonderer und herzlicher Dank gilt jedoch meiner Familie, die meinen beruflichen Werdegang in jeder Hinsicht unterstützt und stets an mich geglaubt haben.

# Lebenslauf

## Persönliche Angaben

---

Name: Christiane Winkler  
Geburtstag,  
Geburtsort: 27.06.1978 in Jena  
Familienstand: ledig  
Adresse: Isoldenstr. 11  
80804 München

## Schulbildung

---

1985-1991 Allgemeinbildende Polytechnische Oberschule  
Clara Zetkin in Jena  
1991-1997 Carl-Zeiss-Gymnasium, Abschluss: Abitur (1,6)

## Hochschulbildung

---

09/1997-08/2003 Studium der Ernährungswissenschaften an der  
Friedrich-Schiller-Universität in Jena  
Abschluss als „Diplom-Trophologin“, Gesamtnote „gut“ (2,0)  
10/2002-7/2003 Diplomarbeit zum Thema „Bestimmung der Glucosinolatverteilung  
von Brokkoli- und Rotkohlsprossen durch Hochdruck-Flüssigkeits-  
Chromatographie (HPLC)“ an der Bundesforschungsanstalt für  
Ernährung in Karlsruhe (1,1)

## Promotion

---

03/2004-07/2008 Doktorandin bei Prof. Dr. med. Berthold Koletzko am Dr. von  
Haunerschen Kinderspital, Abt. Stoffwechsel und Ernährung  
in Kooperation mit dem Institut für Diabetesforschung, München

München, den 31.07.2008